



FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

DESENVOLVIMENTO DE VEÍCULOS DESTINADOS À PREPARAÇÃO DE SUSPENSÕES PARA USO VETERINÁRIO

Bárbara Sofia Pinto Miranda Pereira

Dissertação do 2º Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre em Tecnologia Farmacêutica

Trabalho realizado sob a orientação do Professor Doutor Paulo Jorge Cardoso da Costa, Professor Doutor José Paulo Cabral de Sousa e Silva, Professora Doutora Margarida Duarte Cerqueira Martins de Araújo e Professora Doutora Ana Patrícia Nunes Fontes de Sousa

Outubro de 2016

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA DISSERTAÇÃO (EXCETO DOS ANEXOS), APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

"A principal meta da educação é criar homens que sejam capazes de fazer coisas novas, não simplesmente repetir o que outras gerações já fizeram. Homens que sejam criadores, inventores, descobridores. A segunda meta da educação é formar mentes que estejam em condições de criticar, verificar e não aceitar tudo que a elas se propõe."

Jean Piaget

Agradecimentos

Agradeço,

Ao Professor Doutor Paulo Costa, meu orientador desde 2008, um engenheiro com diploma de farmacêutico, benditas sejam as suas capacidades informáticas e para lidar com todo o tipo de máquinas. Bendita seja a sua calma, que eu muito aprecio.

Ao Professor Doutor José Paulo Sousa e Silva, meu co-orientador, pela sua visão tecnológica e prática das Ciências Farmacêuticas, pelo acompanhamento próximo e atento.

Às minhas co-orientadoras e médicas veterinárias:

À Professora Doutora Margarida Araújo, pela simpatia, amabilidade, sorriso permanente. Pela visão inteligente das situações, dos problemas, das soluções, da *big picture*.

À Professora Doutora Ana Patrícia Sousa, pela ajuda, sentido prático, orientação para resultados, pelo foco e assertividade (foram coisas que me faltaram algumas vezes nestes últimos tempos).

Obrigada a ambas por me terem recebido (uma farmacêutica) tão bem, por terem acreditado no meu trabalho, por terem sabido sempre cooperar, unir conhecimentos e esforços, sempre muito interessadas em saber mais sobre Tecnologia Farmacêutica e partilhar o lado veterinário, o conhecimento sobre os animais, seus comportamentos, doenças, fisiologia.

À Professora Doutora Fernanda Bahia, por ter sido desde o início dos meus estudos em Ciências Farmacêuticas um exemplo a seguir, uma pessoa corajosa, digna, equilibrada. Uma farmacêutica completa, que pinta, que escreve. Uma inspiração.

Ao Professor Doutor José Manuel Sousa Lobo, pelas aulas mais diferentes, pelos exames mais inspiradores que alguma fiz, pela visão fora da caixa. Consigo ver a luz da Tecnologia Farmacêutica.

Ao Professor Doutor Domingos de Carvalho Ferreira, pelas conversas divertidas, pela boa disposição, pelo apoio, pelos almoços. Por ser uma pessoa com quem se pode sempre contar.

À Professora Doutora Helena Amaral que conversou comigo muitas vezes, compreendeu-me, tanto sobre trabalho como sobre a vida em geral. Não se limita a ser professora, mas também empresta a sua amizade.

Ao Professor Doutor Paulo Lobão, por ter argumentado o meu seminário, e por todos estes anos em que nos conhecemos e convivemos, por ser alguém diferente entre iguais, por ousar não caminhar com a maioria, por ser sempre uma lufada de ar fresco nos corredores sombrios da Tecnolândia. Obrigada também por me ter convidado para dar a minha primeira aula e poder mostrar o entusiasmo que tenho pelo meu trabalho. P.S. adoro as suas camisas havaianas!

Sou muito grata ao Jaime por me ter oferecido o metronidazol, por me ter dado dicas sempre úteis e apoiado nas minhas dúvidas. Vais ser um excelente professor!

Ao Daniel, pelo seu esforço durante o começo da sua carreira (eu sei que é muito difícil arrancar), pela boa vontade. Pelo seu profundo conhecimento de vídeos do youtube com os quais nos rimos e nos divertimos. Pela companhia, que conta muito.

Ao Rui Faria pela permanente disponibilidade, amizade e por com ele e com o Daniel me permitirem divergir dos assuntos de estudo e do âmbito farmacêutico. Ao Rui devo a capa deste trabalho (e várias partes do conteúdo, de forma indireta), fiambre, iogurtes, gressinos e muita compreensão e paciência para com o meu analfabetismo informático. O melhor momento dos meus dias, estes últimos meses, também têm sido os nossos lanches.

Aos meus companheiros da subcave:

Marlene, Gabriela, Verónica, Isabel, Alexandra, Bruna, John, Daniela, João Carlos, fizeram os meus dias passar mais rápido e serem mais doces e alegres. Fizeram-me sentir preenchida. (Bruna, obrigada pelo companheirismo e paciência. Daniela e João Carlos: onde é que estiveram este tempo todo? Porque é que só chegaram agora à minha vida?? :D).

À minha querida e saudosa Ana Cláudia Afonso (cheia de qualidades farmacêuticas), pela dica maravilhosa que levou a que encontrasse as minhas co-orientadoras. E por sempre ter acreditado em mim e no meu trabalho. Vais voar muito alto.

Para a Jéssica não tenho agradecimentos suficientes (o Professor Paulo Costa mandou-me CORTAR no número de páginas e nas palavras!). Uma pessoa generosa, pura, companheira, amiga, trabalhadora. Todo o sucesso que quero para mim, desejo para ti. És maravilhosa.

À Lisete, minha colega de curso, e eminente manipuladora (no sentido farmacêutico da questão), que mostrou grande entusiasmo pela ideia e desenvolvimento do meu trabalho, que partilhou comigo dicas preciosas dos seus conhecimentos profissionais.

Ao Cláudio, também meu colega de curso, que me ajudou a lançar as primeiras pedras do meu trabalho prático, que sempre acreditou na viabilidade prática das minhas ideias e serviu de ponte entre mim e o Hospital Veterinário da Trofa.

Aos proprietários dos cães e gatos que utilizei nos meus ensaios. Foram todos espetaculares, muitos ofereceram a ajuda sem eu pedir nada. Quem tem família e amigos tem tudo.

Às funcionárias do Biotério do ICBAS, Dra. Bárbara Oliveira e Dra. Salomé Monteiro, por terem valorizado e compreendido o interesse do meu trabalho, por me terem ajudado com os testes em ratos e ratinhos, por terem voluntariado todos os vossos 16 (!!) animais domésticos para os meus testes.

Ao Dr. Jorge Ribeiro, do Hospital Veterinário da Universidade do Porto, e a todos os médicos veterinários do Hospital Veterinário da Trofa, nomeadamente ao seu responsável, Dr. Diogo Frias, que se disponibilizou para colaborar neste trabalho.

Aos meus colegas do MTF 2007 , que me ajudaram muito (sendo eu um “animal de grupo”): Alberto Chambe, um exemplo de persistência, calma e força de vontade; a minha homónima Bárbara Noronha, uma amiga querida, voluntariosa, determinada, intensa, que me deu a mão muitas vezes e me puxou para o seu lado, sem a qual eu não teria percebido nada de SPSS; a Luciana Vieira, amiga que muito admiro e, tal como eu, fala farmacêutico, variante “tecnológês”; ao José Carlos, meu colega de curso, a primeira pessoa que conheci nesta faculdade e que descobri como amigo com este mestrado, com quem vejo para além das primeiras e segundas impressões, quem adoro; Karolline, Suzana, Vítor, Nathalie, Miguel, muito obrigada pelos bons momentos e companheirismo.

À Aromac e Lucta, pelas amostras de aromas que me ofereceram e que tanto valorizaram o meu trabalho.

À FMC, pela amostra do Avicel® RC-591, excipiente base das suspensões aqui desenvolvidas.

Aos meus pais agradeço eternamente por TUDO.

A todos sou muito obrigada.

Resumo

A importância dos animais na sociedade atual é cada vez maior, no entanto, a indústria dos medicamentos não tem conseguido dar resposta às suas necessidades reais. O gosto pelos animais e a constante preocupação com o seu bem-estar foi a razão de o presente trabalho ser dedicado a esta temática.

A produção industrial de Medicamentos de Uso Veterinário (MUV) e a sua manipulação em farmácias de oficina constituem um vasto campo cheio de oportunidades para o farmacêutico explorar. O mercado dos MUV apresenta um grande potencial de expansão nos próximos anos, se considerarmos a tendência atual relativa ao aumento da valorização dos animais de companhia.

Para se saber que especialidades farmacêuticas fazem falta (e para se ter conhecimento das necessidades reais das clínicas veterinárias/médicos veterinários) realizou-se um inquérito a médicos veterinários, de resposta rápida, anónimo, com 5 perguntas. Ponderou-se também se as especialidades farmacêuticas que já se encontram comercializadas são acessíveis, a que espécies animais são destinadas e se contemplam a enorme variedade ponderal de cada espécie animal. Depois da análise dos resultados do inquérito, escolheu-se o metronidazol para testar no veículo desenvolvido, uma vez que foi a substância ativa mais vezes mencionada pelos médicos veterinários como sendo difícil de prescrever.

O desenvolvimento de uma formulação líquida para administração por via oral permite obviar muitos problemas, pois esta facilita a administração do medicamento em casa pelo proprietário. A fórmula oral pode ser rapidamente preparada numa farmácia, mediante receita médico-veterinária, e adaptando a concentração do fármaco ao animal em questão (peso, idade, diagnóstico).

Um dos desafios no desenvolvimento farmacêutico foi encontrar excipientes adequados ao uso veterinário e compatíveis entre si de forma a obter, no final, suspensões eficazes e estáveis. Cada veículo deverá ser desenvolvido especificamente para as espécies a que se destina pelo que é importante aliar a Medicina Veterinária à Tecnologia Farmacêutica. Foram selecionados diferentes aromas para cada suspensão, tendo em consideração as preferências de cada grupo de animais, o que nos levou a realizar um protocolo de Testes de Preferência em 30 cães e em 33 gatos, de forma a aferir os aromas, de entre 3 opções, que estes preferem. Após análise dos resultados obtidos, o aroma escolhido foi então incluído nas suspensões destinadas a este grupo de animais. Os cães preferiram aroma a carne e os gatos preferiram o pescado e o fígado.

Uma vez obtida a fórmula final do veículo, foi testada a sua estabilidade durante 1 mês, com análises ao tempo zero e passados 7, 14 e 30 dias após preparação. A conservação das suspensões foi realizada a 25°C e também a 40°C (ensaio acelerado). As análises efetuadas foram: medição do pH, doseamento da substância ativa, características organolépticas e determinação da viscosidade da suspensão. Em todos os parâmetros, exceto no doseamento do metronidazol, a suspensão mostrou estabilidade após 30 dias da sua preparação. Em relação ao doseamento do metronidazol, os resultados não foram conclusivos, pelo que seria necessário aperfeiçoar esta técnica.

Palavras-chave: Medicamentos de uso veterinário, animais de companhia, desenvolvimento farmacêutico, suspensão, testes de preferência, veículo, estabilidade.

Abstract

The importance of pets in today's society is increasing, however, the medicines industry hasn't been able to respond to their actual needs. The appreciation for animals and the constant concern for their well-being was the reason of this work being dedicated to this issue.

The production of veterinary medicines, whether at the industrial level or compounding at community pharmacies, is a vast field full of opportunities for the pharmacist to explore. There is still room for the market introduction of new pharmaceutical forms for veterinary use. This is a market with great potential for expansion in the coming years, being the worldwide trend to increment the appreciation of pets.

In order to know which medicines are missing (and to have knowledge of the real needs of the veterinary clinics/veterinarians) we came in contact with these professionals creating a rapid response survey, anonymous, with 5 questions. It was considered also the lack of medicinal products on the market and if the specialties that are marketed are accessible, for which animals they are meant and if they contemplate the variety of each animal species. After the analysis of the results of the investigation, metronidazole was chosen to test with the vehicle developed since it was the active substance more often mentioned by veterinarians as being difficult to prescribe.

Developing a liquid formulation allows to overcome many problems, since this facilitates the administration of medication at home, by the owner. The oral formula can be quickly prepared in a pharmacy by prescription, and adapting the concentration of the active ingredient to the animal in question (weight, age, diagnosis).

One of the challenges as far as pharmaceutical development is concerned is to find suitable excipients for veterinary use and compatible with each other so as to obtain, in the end, innovative and stable suspensions. Each vehicle must be developed specifically for the intended species so it is important to combine the veterinary medicine with the pharmaceutical technology. Different flavours were selected for each suspension, taking into account the preferences of each group of animals, which has led us to carry out a protocol of Preference Tests in 30 dogs and 33 cats, in order to assess the flavours, of between 3 options, which they prefer. After analysis of the results obtained, the selected flavour was then included in the suspension aimed at this group of animals. Dogs preferred meat flavour and cats preferred fish and liver.

Once the final formula of the vehicle(s) was obtained, its stability was tested by adding an active ingredient, within the ones that seemed more relevant. The aim was to know if,

within 30 days, the medicine produced can be used while maintaining the characteristics that possessed at the time it was produced.

The stability was evaluated during 1 month, with 4 time points (zero, 7, 14 and 30 days). The storage conditions were set at 25°C and also at 40°C (accelerated storage condition). The analyses performed were: pH measurement, assay, organoleptic characteristics and determination of the viscosity of the suspension. Once the final formula of the vehicle was obtained, its stability was evaluated during 1 month, with 4 time points (zero, 7, 14 and 30 days after preparation). The storage conditions were set at 25° C and also to 40°c (accelerated storage condition). The analyses performed were: pH measurement, assay, organoleptic characteristics and determination of the viscosity of the suspension. In all parameters, except for the assay, the suspension showed stability after 30 days of preparation. As far as the assay of metronidazole is concerned, the results were not conclusive, for it would be necessary to improve this technique.

Keywords: Veterinary use medicines, pets, pharmaceutical development, suspension, palatability tests, vehicle, stability.

Índice

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Animais de companhia na sociedade-----	3
1.1.1 Tratamento farmacológico em cães e gatos	5
1.2 Lacunas no tratamento de cães e gatos -----	6
1.3 Formulação de medicamentos de uso veterinário -----	7
1.4 Medicamentos manipulados-----	10
1.5 Suspensões orais-----	14
1.5.1 Excipientes.....	17
1.5.1.1 Agente suspensor.....	18
1.5.1.2 Agente flocculante / suspensor.....	20
1.5.1.3 Agente molhante	21
1.5.1.4 Edulcorante	22
1.5.1.5 Conservantes	24
1.5.1.6 Aromatizantes.....	26
1.5.1.7 Corante.....	28
1.5.2 Substância ativa	29
1.5.2.1 Metronidazol	29
1.6 Testes de preferência-----	33
1.7 Estudo da estabilidade -----	36
2. OBJETIVOS.....	38
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
3.1 Materiais-----	39
3.1.1 Matérias-primas.....	39
3.1.2 Reagentes.....	43
3.1.3 Aparelhos utilizados	43

3.2	Métodos	44
3.2.1	Inquérito realizado aos Médicos Veterinários	44
3.2.2	Desenvolvimento do veículo	45
3.2.2.1	Determinação da viscosidade	45
3.2.2.2	Determinação da concentração de Avicel® RC-591	48
3.2.2.3	Determinação da concentração de goma xantana	48
3.2.2.4	Determinação da concentração dos conservantes (e agente molhante)	49
3.2.2.5	Determinação da concentração da frutose	50
3.2.2.6	Determinação da concentração dos aromas	51
3.2.2.7	Adição da substância ativa e do corante à suspensão	52
3.2.3	Testes de preferência	54
3.2.4	Ensaio de estabilidade	56
3.2.4.1	Identificação e doseamento do metronidazol	57
3.2.4.1.1	Identificação por espectrofotometria UV/VIS	57
3.2.4.1.2	Desenvolvimento do método de doseamento por HPLC	58
3.2.4.1.3	Validação dos parâmetros analíticos da HPLC	58
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4.1	Inquérito realizado aos Médicos Veterinários	61
4.2	Desenvolvimento do veículo	68
4.2.1	Determinação da concentração de Avicel® RC-591	68
4.2.2	Determinação da concentração de goma xantana	71
4.2.3	Determinação da concentração dos conservantes	74
4.2.4	Determinação da concentração da frutose	75
4.2.5	Determinação da concentração dos aromas	76
4.2.6	Adição da substância ativa e do corante ao veículo	78
4.3	Testes de preferência	80
4.4	Estudo da estabilidade	85
4.4.1	Determinação do pH	85
4.4.2	Identificação e doseamento do metronidazol	87

4.4.2.1	Identificação por espectrofotometria UV/VIS	87
4.4.2.2	Doseamento do metronidazol	87
4.4.3	Determinação da viscosidade.....	92
4.4.4	Avaliação das características organoléticas	95
4.5	Fórmula final-----	96
5.	CONCLUSÕES.....	99
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101
ANEXO	104

Índice de figuras

Figura 1 - <i>The Veterinarian</i> , de Jose Perez (1).....	1
Figura 2 – Administração de uma forma farmacêutica oral a um cão através de uma seringa (19).....	15
Figura 3 – Representação esquemática do mecanismo de estabilização de um fármaco na rede do Avicel® RC-591, em que API = <i>Active pharmaceutical ingredient</i> (34)...	18
Figura 4 – Extrusão de uma suspensão com ARC de uma pistola doseadora “ <i>drench gun</i> ”, em que API = <i>Active pharmaceutical ingredient</i> (34).	19
Figura 5 - Estrutura química da goma xantana (C ₃₅ H ₄₉ O ₂₉) _n	20
Figura 6 - Estrutura química do polissorbato 80 (C ₆₄ H ₁₂₅ O ₂₆).	22
Figura 7 - Estrutura química da frutose.	23
Figura 8 - Estrutura química do metilparabeno sódico (C ₈ H ₇ O ₃ Na), à esquerda, e do propilparabeno sódico (C ₁₀ H ₁₁ NaO ₃), à direita.....	25
Figura 9 - Preferência de sabores de alguns animais de companhia (fonte: catálogo FLAVORx) (40).....	27
Figura 10 - Estrutura química do corante Ponceau 4R Conacert.....	28
Figura 11 - Estrutura química do metronidazol (C ₆ H ₉ N ₃ O ₃).	29
Figura 12 – Teste de preferência “de duas taças” em cão.....	54
Figura 13 - Suspensões finais na câmara climática a 40°C.....	57
Figura 14 - Imagem do questionário dos Formulários do Google disponibilizado <i>on-line</i> para preenchimento por médicos veterinários.	63
Figura 15 – Faixa etária dos médicos veterinários que responderam ao questionário. Cada coluna representa a percentagem de respostas obtidas, sendo o número absoluto indicado no interior das mesmas.	64
Figura 16 – Região onde os médicos veterinários que responderam ao questionário exercem a sua atividade. Cada coluna representa a percentagem de respostas obtidas, sendo o número absoluto indicado no interior das mesmas.	64
Figura 17 – Substâncias ativas mais difíceis de administrar a animais de companhia. Cada coluna representa a percentagem de respostas obtidas, sendo o número absoluto indicado no interior das mesmas.	65
Figura 18 – Comportamento reológico de uma suspensão de Avicel® RC-591 a 2% ao t7.....	68
Figura 19 – Curva de escoamento de uma suspensão de Avicel® RC-591 a 2% ao t7.	68

Figura 20 - Variação da viscosidade (Pa.s) das suspensões com o aumento da concentração de Avicel® RC-591, a t0 e t14, a baixa velocidade de corte (12,64 s ⁻¹).	70
Figura 21 - Variação da viscosidade (Pa.s) das suspensões com o aumento da concentração de Avicel® RC-591, a t0 e t14, a elevada velocidade de corte (163,3 s ⁻¹).	70
Figura 22 – Aspeto típico de uma suspensão de água purificada com Avicel® RC-591 como agente suspensor.	71
Figura 23 – Variação de <i>n</i> com o tempo.	72
Figura 24 - Variação da viscosidade (Pa.s) das suspensões com o aumento da concentração de GX, a t0 e t14, a baixa velocidade de corte (12,64 s ⁻¹).	73
Figura 25 - Variação da viscosidade (Pa.s) das suspensões com o aumento da concentração de GX, a t0 e t14, a elevada velocidade de corte (162,3 s ⁻¹).	74
Figura 26 – 3 ^a FF 40 dias após preparação.	75
Figura 27 – Aspeto da 4 ^a FF com metronidazol 200 mg/mL.	78
Figura 28 – Aspeto da 9 ^a FF com metronidazol 200 mg/mL, aroma de carne a 1% e corante vermelho a 0,0023%.	78
Figura 29 – Caracterização da amostra de cães que participaram nos testes de preferência (n=30).	81
Figura 30 – Estudo de preferência dos cães entre 3 suspensões com aroma a carne, fígado e frutos vermelhos (n=30).	82
Figura 31 – Caracterização da amostra de gatos que participaram nos testes de preferência (n=33).	82
Figura 32 - Estudo de preferência dos gatos entre 3 suspensões com aroma a pescado, fígado e banana (n=33).	83
Figura 33 - Variação dos valores de pH da suspensão final ao longo dos dias.	85
Figura 34 - Espectro UV/VIS do metronidazol.	87
Figura 35 - Cromatograma do metronidazol na suspensão final.	87
Figura 36 - Cromatograma do metronidazol à esquerda. À direita espectro da parte ascendente, do máximo e da parte descendente do pico do metronidazol.	88
Figura 37 – A - Curva de calibração do metronidazol. B - Gráfico dos desvios.	88
Figura 38 – Variação de <i>n</i> com o tempo.	93
Figura 39 – Variação da viscosidade (Pa.s) a baixa tensão de corte (12,64 s ⁻¹) com o tempo.	93
Figura 40 - Variação da viscosidade (Pa.s) a elevada tensão de corte (162,3 s ⁻¹) com o tempo.	94
Figura 41 – Comportamento reológico das suspensões após preparação e após 30 dias armazenadas a 25 e 40°C.	94
Figura 42 - Aspeto da suspensão final 30 dias após preparação.	95

Índice de tabelas

Tabela 1 – Poder edulcorante relativo de edulcorantes frequentemente utilizados (8).	23
Tabela 2 – Doses de metronidazol a administrar por via oral a cães e respectivas frações de comprimidos de 250 mg (Cp 250) e 500 mg (Cp 500).	30
Tabela 3 – Doses de metronidazol a administrar por via oral a gatos e respectivas frações de comprimidos de 250 mg (Cp 250) e 500 mg (Cp 500).	31
Tabela 4 – Tabela resumo das doses unitárias de metronidazol a administrar aos grupos de animais de companhia estudados (doses mínimas e máximas).	31
Tabela 5 – Condições de armazenamento dos 2 lotes cuja estabilidade será testada.	37
Tabela 6 – Conservantes testados (e respectivas concentrações).	50
Tabela 7 – Concentrações de frutose testadas.	50
Tabela 8 – Alguns aromas testados (e respectivas concentrações).	52
Tabela 9 – Corante, fármaco, edulcorante e aromas testados.	53
Tabela 10 – Resultado da avaliação reológica das suspensões com diferentes concentrações de Avicel® RC-591, ao tempo 0 e ao tempo 14, aplicando o Modelo de Herschel-Bulkley.	69
Tabela 11 – Resultado da avaliação reológica das suspensões de Avicel® RC-591 a 2% adicionadas de GX em diferentes percentagens, ao tempo 0 e ao tempo 14, aplicando o Modelo de Herschel-Bulkley.	72
Tabela 12 – Concentrações finais dos diferentes aromas testados.	77
Tabela 13 - Variação dos valores de pH das suspensões finais ao longo dos dias.	85
Tabela 14 – Médias das áreas, desvios padrão e coeficientes de variação da curva de calibração do metronidazol (n=15).	89
Tabela 15 – Resultados do doseamento do metronidazol na suspensão final durante os ensaios de estabilidade.	90
Tabela 16 – Resultado da avaliação reológica das suspensões finais aplicando o modelo de Herschel-Bulkley.	92
Tabela 17 – Fórmula final com metronidazol doseado para cães de peso médio.	96

Lista de abreviaturas

AIM: Autorização de Introdução no Mercado

ANF: Associação Nacional das Farmácias

API: *Active pharmaceutical ingredient*

ARC: Avicel® RC-591

bid: (b.i.d. ou BID) significa 2 vezes por dia (do latim, "bis in die")

CMC: Celulose microcristalina

CMC Na: Carboximetilcelulose sódica

DGAV: Direção-Geral de Alimentação e Veterinária

DL: Decreto-Lei

DL₅₀: Dose letal para 50% da população

dp: desvio-padrão

EMA: *European Medicines Agency*

EVMV: Estabelecimento de venda a retalho de medicamentos veterinários

FF: Fórmula Final

GX: Goma Xantana

HPLC: *High Performance Liquid Chromatography*

ICH: *International Conference on Harmonisation*

INFARMED: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

IP: Via intraperitoneal

IV: Via intravenosa

MUH: Medicamentos de uso humano

MUV: Medicamentos de uso veterinário

MVNSRM: Medicamentos veterinários não sujeitos a receita médica

MVSRM: Medicamentos veterinários sujeitos a receita médica

OMV: Ordem dos Médicos Veterinários

ORBEA: Organismo Responsável pelo Bem-estar dos Animais do Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto

PO: *Per os* (pela boca)

PG: Propilenoglicol

PUV: Produto de uso veterinário

RCMV: Resumo das características do medicamento veterinário

s.a.: substância ativa

UV-VIS: Ultra-Violeta Visível

1. Introdução



Figura 1 - *The Veterinarian*, de Jose Perez (1).

O presente trabalho surgiu no seguimento do Seminário do Mestrado em Tecnologia Farmacêutica, intitulado **Medicamentos Veterinários em Portugal – Novas Oportunidades**, durante o qual se abordou o estado atual dos medicamentos veterinários em Portugal, assim como as lacunas existentes no tratamento farmacológico dos animais de companhia.

As necessidades na área da veterinária refletem as mudanças na economia e sociedade humana. À medida que as pessoas se envolvem nas mais modernas tecnologias, vai também diminuindo a extensão da estrutura familiar e, consequentemente, aumentando o número de indivíduos que levam vidas relativamente solitárias. Como resultado, os animais de companhia têm vindo a ocupar um importante espaço na vida doméstica e até familiar, com as preocupações clínicas e as opções terapêuticas a tornar-se tendencialmente similares às da medicina humana.

Neste momento, medicamentos veterinários já se aplicam a áreas tão diversas como o tratamento do cancro, ansiedade, dor e hipertensão, doenças estas usualmente associadas à medicina humana e, em particular, à praticada nos países desenvolvidos. Os medicamentos veterinários para pequenos animais constituem, assim, uma área de grande crescimento para a indústria farmacêutica.

A área do MUV encontra-se legislada em Portugal, similarmente à área dos Medicamentos de Uso Humano (MUH). O grau de exigência de segurança, qualidade e eficácia para uns e para outros é e deverá ser sempre o mesmo. Porém, é comum o médico veterinário deparar-se com a falta de MUV para situações clínicas específicas, tendo de recorrer ao uso de MUH. Contudo, existem algumas limitações nesta abordagem que se prendem com vários fatores como a dosagem, as formas farmacêuticas e os excipientes de uso humano que muitas vezes não são os adequados para serem administrados a animais. Para contornar esta situação, o médico veterinário vê-se obrigado a adaptar estes medicamentos aos seus doentes. Em outras situações, não existe mesmo um medicamento disponível no mercado que se adeque à condição clínica do animal, com as consequências óbvias inerentes.

A produção de Medicamentos Veterinários a nível Industrial, ou de Manipulação em Farmácias de Oficina, constitui um vasto campo cheio de oportunidades para o farmacêutico explorar.

Acreditamos que existe ainda espaço para a introdução no mercado de novas especialidades farmacêuticas para uso veterinário. Este é um mercado com grande potencial de expansão nos próximos anos, sendo que a tendência mundial é para o aumento da valorização do animal de estimação, que cada vez mais se tornará um elemento das nossas famílias e por quem, portanto, estaremos dispostos a fazer tudo o que for necessário para que tenha um bem-estar que se iguale ao nosso.

O intuito desta tese de mestrado foi identificar e cobrir algumas das lacunas existentes no mercado português de MUV. Para tal propusemo-nos desenvolver um medicamento que seja útil para os animais e que possa constituir uma inovação tecnológica, de forma a torná-lo apelativo em termos comerciais.

Para levar a cabo este objetivo teve que haver uma reunião de esforços entre duas classes profissionais: farmacêuticos e médicos veterinários. Os veterinários intervieram na pesquisa das dificuldades na prescrição no seu trabalho diário nas clínicas, na parte da fisiologia, terapia farmacológica e comportamento animal. Os farmacêuticos dedicaram-se ao desenvolvimento de veículos destinados à administração oral.

1.1 Animais de companhia na sociedade

Faremos neste capítulo uma breve introdução aos principais animais de companhia e ao que eles representam para nós humanos, tanto a nível emocional (nas nossas vidas), como a nível económico (vendas de medicamentos e gastos com a sua saúde). Esta introdução servirá de base para justificar porque é que, na presente tese, foi decidido mudarmos o foco habitual das Ciências Farmacêuticas dos medicamentos para seres humanos para os MUV.

Segundo a **Lei nº 69/2014** (2), um **animal de companhia**, também conhecido como animal de estimação, é qualquer animal detido por seres humanos, no seu lar, para seu entretenimento e companhia. Nesta definição não se enquadram os animais utilizados para fins de exploração agrícola, pecuária ou agroindustrial, assim como os destinados para fins de espetáculo comercial.

Os animais de estimação mais populares em todo o mundo são os cães e os gatos, embora existam outras espécies de interesse como os mamíferos exóticos (como coelhos, porquinhos-da-índia, hamsters), aves e peixes. Em Portugal estima-se que existam cerca de 6,7 milhões de animais de estimação, o que representa um crescimento de 45% nos últimos 4 anos, com os cães a surgirem em maioria (38%), logo seguidos dos gatos (20%), pássaros (9%), peixes e outras espécies (4%) (3, 4).

Em relação ao caso dos cães, observa-se uma tendência para os proprietários, ou mais corretamente os tutores optarem por cães de pequeno porte (4).

De facto, tal como em muitos outros países, Portugal já regista mais cães ou gatos nos núcleos familiares, do que crianças. Os animais começam a ganhar o seu espaço dentro das habitações, sendo muitas vezes o centro das atenções por parte das famílias, que já os consideram como membro das mesmas (5). Em 10% dos lares portugueses coabitam cães e gatos e estima-se que “cerca de dois milhões de lares portugueses (54%) possuam pelo menos um animal de estimação”. O fenómeno é transversal e Portugal ocupa o 12º lugar do *ranking* de países com mais animais de estimação. Os EUA situam-se no topo dos países *pet-friendly* e, ao nível da Europa, Rússia, França, Itália, Alemanha e Inglaterra estão à frente de Portugal no que a esta tendência diz respeito. As razões que o justificam prendem-se com a alteração dos núcleos familiares e a constatação de que os animais de companhia contribuem para o bem-estar físico e psicológico dos tutores (4).

De acordo com a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), em 2014, a receita obtida com os Produtos de Uso Veterinário (PUV) rondou os 20 milhões de euros, apesar da quantidade de MUV vendidos ter diminuído 12% entre 2014 e 2015 (3).

Segundo a Associação Nacional de Farmácias (ANF), os produtos e medicamentos para a saúde animal “integram um segmento tradicional da atividade das farmácias” (3). Na sua perspetiva, o crescimento das vendas tem vindo a verificar-se de forma progressiva, devido a uma maior intervenção das farmácias e a um maior interesse por parte dos tutores dos animais. No entanto, será vantajoso para estes estabelecimentos de saúde investir em formação e apoio técnico especializado, que lhes permita tornarem-se mais competentes nesta área e aproveitarem a tendência geral de evolução do mercado de saúde animal (3).

Por seu lado, a Apifarma considera que a saúde animal “tem atualmente um papel na sociedade que supera em muito o seu próprio valor económico” e frisa que este “é um setor estratégico, com níveis de investimento em Investigação e Desenvolvimento de 10% das suas vendas” e com “trabalhadores altamente qualificados”. Lembrando que os animais de companhia têm um papel relevante enquanto elementos que participam e coabitam no ambiente familiar, defende que a sua proteção e bem-estar tem “importância decisiva para evitar a transmissão de doenças no núcleo familiar” (3).

De referir que, segundo a DGAV, estão no mercado 2 506 medicamentos veterinários. Em 2015 foram autorizados 186, mais 30 do que em 2014. Também os ensaios clínicos aumentaram 34% entre 2014 e 2015. Sobre a distribuição por grosso, a ANF diz que “a par das empresas que fornecem medicamentos humanos e destinados a animais, existem armazenistas especializados neste setor que operam exclusivamente para as farmácias e fornecem todas as referências necessárias à saúde e bem-estar animal” (3).

Neste trabalho os animais de companhia abordados serão o cão e o gato.

1.1.1 Tratamento farmacológico em cães e gatos

No seguimento do que já foi dito, assiste-se hoje a uma maior preocupação por parte dos tutores em prestar os melhores cuidados (p.e. higiene, alimentação, saúde) aos seus animais de estimação. Isto reflete-se nas visitas efetuadas ao médico veterinário, de modo que uma elevada percentagem dos portugueses levam o seu cão e gato ao veterinário, com cerca de 50% dos proprietários a procurarem assistência médico-veterinária uma vez por ano. Os motivos de consulta prendem-se com a vacinação (91% dos casos), desparasitação interna (43% dos casos) ou externa (33% dos casos), por uma questão de rotina (em 28% dos casos), e finalmente por questões relacionadas com doença (22% dos casos) (4).

Num estudo realizado há cerca de 8 anos verificou-se que as doenças médico-cirúrgicas mais comuns em animais de companhia em contexto de urgência e internamento incluem, entre outras, a hipertensão arterial, arritmias, edema pulmonar, gastroenterite vírica ou parasitária, infeção urinária, insuficiência renal crónica, piómetra, convulsões, fratura do fémur, anemia hemolítica, diabetes, tumores vários, abscessos cutâneos, otites (6). Tal como na medicina humana, estes quadros clínicos terão muitas vezes que ser tratados com recurso a medicamentos.

No que concerne à forma de administração de medicamentos, esta necessita que os cães e gatos sejam pesados previamente para se poder ajustar a dose adequada. No caso das raças de cães de maior porte, o cálculo da dose total deve ser baseado no limite inferior do intervalo de dosagem recomendado (7). Os medicamentos podem ser administrados por via oral, com o auxílio da comida, por injeção ou por via transdérmica. A adesão terapêutica por parte do tutor deve sempre ser tida em conta aquando da prescrição de medicamentos para os animais (7). As vias mais comuns para a administração parentérica de medicamentos são as vias subcutânea, intramuscular e intravenosa. Devido à massa muscular limitada, os volumes a serem administrados por via intramuscular não podem ultrapassar os 4-5 mL em cães de raça grande, 2-3 mL em cães de raça pequena e 1,5-2 mL em gatos. Se houver necessidade de administrar volumes superiores, dever-se-á repartir o volume por vários grupos musculares. No caso da via subcutânea, esta permite a administração de volumes maiores, na ordem dos 15-20 mL em cães de raça pequena, 25-30 mL em cães de raça grande e 15-20 mL em gatos (7).

1.2 Lacunas no tratamento de cães e gatos

A maioria dos medicamentos veterinários comercializados é para espécies específicas, para fins alimentares ou para uma população alvo de grande dimensão. Se as empresas farmacêuticas não previrem um mercado suficientemente grande/lucrativo para os seus produtos, não tentam obter aprovação para comercializar os mesmos. Este facto deixa um vácuo num potencial mercado, que pode ser preenchido por medicamentos manipulados.

Por exemplo, no caso das espécies exóticas existem poucos medicamentos aprovados, dado o mercado limitado que estas representam. Por outro lado, mesmo para as espécies mais comuns como o cão e o gato, a oferta comercial não é suficiente. Os médicos veterinários precisam de medicamentos específicos para os seus animais e os farmacêuticos sabem como prepará-los. Assim, um trabalho de equipa deve ser desenvolvido de forma a beneficiar os médicos veterinários, os farmacêuticos e, principalmente, os animais.

Um dos grupos terapêuticos de medicamentos veterinários mais presentes no mercado português é o dos antiparasitários, descurando-se outras doenças clinicamente importantes, que acabam por ser tratadas com MUH. Com frequência as dosagens, as formas farmacêuticas e os excipientes de uso humano não são adequados à administração em animais, vendo-se o médico veterinário obrigado a “improvisar”, adaptando estes medicamentos aos seus doentes. Outras vezes, não há mesmo um medicamento disponível no mercado que se adeque à situação com a qual o veterinário se depara, acabando por o animal ficar sem tratamento, o que pode, evidentemente, ter sérias consequências na sua saúde e até mesmo levar à morte por falta de tratamento. No entanto, não foi realizado até ao momento nenhum levantamento junto dos médicos veterinários sobre os medicamentos em falta no mercado português dos MUV ou sobre as suas dificuldades em adaptar os MUV atualmente disponíveis aos diferentes animais.

1.3 Formulação de medicamentos de uso veterinário

O desenvolvimento de MUV novos é essencial para a manutenção da saúde e bem-estar animal. Para os animais de companhia, os medicamentos são usados para tratar uma variedade de doenças em muito semelhantes às observadas em humanos (8). Neste sentido, é importante compreender as necessidades e restrições próprias das espécies animais e a estrutura e regras das agências envolvidas no processo regulamentar, para otimizar o uso e desenvolvimento de medicamentos para animais. O processo que leva à aprovação e à comercialização de novos MUV é semelhante ao processo para MUH. Na verdade, a maioria dos medicamentos para animais foram inicialmente desenvolvidos para uso em humanos. No entanto, a conceção de formulações farmacêuticas para uso veterinário envolve desafios que vão para além da variabilidade intra-espécie que ocorre nas pessoas (8). Os desafios no desenvolvimento de formulações de uso veterinário são vários e incluem (8): (i) diversidade no tamanho, comportamento, necessidades metabólicas e esperança de vida de cada espécie animal; (ii) diferenças farmacocinéticas e toxicológicas entre espécies e raças; (iii) elevado espetro de agentes causadores de doenças, que originam diferentes manifestações; (iv) multiplicidade de ambientes onde os animais são criados/mantidos (e.g ambiente doméstico, quintas); (v) impossibilidade de comunicar diretamente com o animal e ensiná-lo; (vi) restrições de ordem financeira; (vii) preocupações com a saúde pública.

O tipo de formulação escolhida para cada animal e a sua via de administração deve, portanto, ter em linha de conta o animal a que se destina e o seu modo de vida. As particularidades fisiológicas e anatómicas de cada espécie animal são determinantes para estabelecer tanto a dose como a forma farmacêutica e a sua adaptação à via de administração (9).

Entre as vias de administração específicas para animais encontram-se as seguintes: uso aculear, banho medicamentoso, uso intrapodal, alimento medicamentoso líquido e alimento medicamentoso sólido, via transcoriônica, aplicação apícola, via intramamária, via intrarruminal, nebulização, uso mamário externo, dispersão superficial no alimento, uso no meio aquático, inoculação alar, via oculonasal, via paravertebral, unção contínua, escarificação e unção punctiforme (10).

Todas as outras vias de administração são comuns com as dos seres humanos, como é o caso da via oral, uma das mais utilizadas nos animais. A via oral de

administração de medicamentos é mais segura do que as vias parentéricas e evita a irritação do tecido nos locais de injeção. No entanto, a grande variação, tanto inter como intra-espécies, na disponibilidade sistêmica é uma característica dos medicamentos administrados por via oral. A conveniência da administração oral de medicamentos depende da espécie animal e da forma farmacêutica. As exigências de formas farmacêuticas orais diferem entre as variadas espécies animais, pois é necessário ter em conta a anatomia e fisiologia do seu sistema digestivo, assim como o seu peso médio. Deve ser tido também em consideração o tamanho da dose total (quantidade de medicamento) a ser administrada e também a biodisponibilidade oral em cada espécie animal.

As formas farmacêuticas orais disponíveis para administração veterinária incluem soluções orais, líquidos, suspensões, geles, pastas, cápsulas, comprimidos, dispositivos intrarruminais, pré-misturas para alimentos medicamentosos, blocos e *pellets* medicamentosos. O tipo de forma farmacêutica é determinado pela solubilidade e propriedades físico-químicas do fármaco, da espécie animal para a qual se destina o medicamento, e se é necessário um início de ação rápido ou um efeito prolongado. Formas farmacêuticas líquidas (soluções, suspensões, emulsões) proporcionam fármacos prontamente disponíveis para absorção, particularmente em espécies monogástricas (8, 10).

Precisamente por causa dos problemas para medicar algumas espécies, muitas vezes recorre-se aos medicamentos manipulados (8). No âmbito do presente trabalho optou-se pelo desenvolvimento de fórmulas líquidas de administração oral para preparação extemporânea nas farmácias (manipulados). Os líquidos são mais práticos de administrar (como esta tese é dedicada a animais de pequeno porte, a administração pode ser efetuada com a ajuda de seringas), permitem a adaptação da dose ao peso do animal e preparam-se mais rapidamente e com menos custos do que as outras formas farmacêuticas.

A questão financeira tem um papel muito importante na decisão de realizar ou não tratamentos nos animais. Por um lado, os proprietários de cães e gatos podem não olhar a meios para tratar os seus companheiros mas, por outro lado, a saúde animal é de carácter essencialmente privado e sem cobertura de seguros. Pode, por isso, tornar-se num fardo muito pesado para quem tem um animal de estimação (8).

As formulações mais simples e económicas são as soluções aquosas. Quando consideramos uma fórmula líquida a estabilidade e a solubilidade são os fatores principais para determinar se é preferível uma solução ou uma suspensão (11). Mas,

dado que muitos fármacos apresentam baixa solubilidade em água, se degradam quando em solução e como é pretendido obter uma preparação com alguma consistência (para evitar que seja expelida pelos animais), optou-se por desenvolver uma suspensão.

1.4 Medicamentos manipulados

“La formulación hace a los farmacéuticos únicos” - Fagron.

O **Decreto-Lei n.º 95/2004** (de 22 de Abril) define como medicamento manipulado qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico (12).

É da exclusiva responsabilidade do farmacêutico preparar e dispensar medicamentos à população (13, 14). É por isso fundamental regular as condições específicas a que deve obedecer a preparação e dispensa de medicamentos manipulados.

Apesar de estar previsto no Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos que “integra o conteúdo do ato farmacêutico o registo, fabrico e controlo dos medicamentos de uso humano e veterinário” (14), a última alteração ao Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos, datada de 2015, diz o seguinte (15):

“1 — O ato farmacêutico é da exclusiva competência e responsabilidade dos farmacêuticos.

2 — O disposto no número anterior não se aplica ao medicamento de uso veterinário.”

Reforçando esta lei, no entanto, no artigo 75º diz que o farmacêutico tem as responsabilidades acima referidas pelo Código Deontológico.

O decreto-lei atualmente em vigor que regulamenta os medicamentos veterinários é o **Decreto-Lei nº314/2009**, de 28 de Outubro, que define (13):

«Fórmula magistral» como o medicamento veterinário preparado numa farmácia de oficina segundo uma receita médico-veterinária e destinado a um animal ou a um pequeno grupo de animais;

e

«Preparado oficial» como o medicamento preparado numa farmácia de oficina segundo as indicações compendiais de uma farmacopeia ou de um formulário e destinado a ser entregue diretamente ao utilizador final;

Da análise dos artigos 64 até 67, do DL nº314/2009, verifica-se que a venda a retalho de medicamentos veterinários é efetuada pelas farmácias e outras entidades legalmente autorizadas. As fórmulas magistrais e os preparados oficiais são exclusivamente preparados e dispensados pelas farmácias. Parece-nos que a Lei n.º

131/2015, que regula a última alteração ao Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos, se torna, por isso, contraditória uma vez que, pelo menos no que diz respeito à preparação e dispensa de medicamentos manipulados, estas só podem ser realizadas por farmacêuticos no âmbito da sua atividade em farmácias de oficina.

O Decreto-Lei atualmente em vigor e que regula a prescrição e a preparação de medicamentos manipulados é o **Decreto-Lei n.º 95/2004**, de 22 de Abril. Esta lei refere-se exclusivamente a MUH, pelo que, na sua elaboração, foram ouvidas a Ordem dos Farmacêuticos, a Ordem dos Médicos, a Ordem dos Médicos Dentistas, a Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (INFARMED), bem como as associações representativas da indústria farmacêutica (12).

Não existe qualquer regulamentação sobre manipulados para animais. Parece-nos de suma importância que se legisle sobre medicamentos manipulados no âmbito veterinário, para que haja um balizamento, um rumo e proteção legal nesta área. Deverá, neste caso, a Ordem dos Médicos Veterinários ser ouvida juntamente com a Ordem dos Farmacêuticos.

De seguida, abordar-se-á o enquadramento legal dos manipulados para seres humanos.

Relações entre médico e farmacêutico

Ao prescrever uma fórmula magistral, o médico deve certificar-se da sua segurança e eficácia, considerando a possibilidade de existência de interações que coloquem em causa a ação do medicamento ou a segurança do doente.

As dúvidas relativamente às condições de prescrição, formulação e interpretação de uma receita médica devem ser esclarecidas diretamente entre o farmacêutico e o médico prescritor (12).

Esta regra aplica-se perfeitamente à relação entre farmacêutico e médico veterinário, a qual deve ser de diálogo científico com vista, em primeiro lugar, a contribuir para um maior bem-estar dos animais, mas também permitindo uma valorização das duas classes profissionais.

Farmacêutico

Ao preparar um medicamento manipulado, o farmacêutico deve assegurar-se da qualidade da preparação, observando para o efeito as boas práticas a cumprir na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar.

O farmacêutico deve ainda verificar a segurança do medicamento, no que diz respeito às doses da ou das substâncias ativas e à existência de interações que ponham em causa a ação do medicamento ou a segurança do doente.

O descondicionamento de especialidades farmacêuticas, com a finalidade de as incorporar em medicamentos manipulados, é um ato de exceção, só podendo realizar-se se não existir no mercado especialidade farmacêutica com igual dosagem ou apresentada sob a forma farmacêutica pretendida e apenas nos seguintes casos (12):

- a) Medicamentos manipulados destinados a aplicação cutânea;
- b) Medicamentos manipulados preparados com vista à adequação de uma dose destinada a uso pediátrico;
- c) Medicamentos manipulados destinados a grupos de doentes em que as condições de administração ou de farmacocinética se encontrem alteradas.

No caso do presente trabalho, não vamos descondicionar especialidades farmacêuticas e sim formular a partir de matérias-primas individuais e com qualidade farmacêutica.

Em Medicina Veterinária é comum ser necessário proceder à manipulação de MUV sempre que a situação clínica o exige. Como exemplos temos (i) o caso de ter de adequar as doses a uma determinada espécie, idade, tamanho e condição clínica; (ii) medicamento não disponível no mercado, nem para uso veterinário ou humano; ou (iii) seja necessário um excipiente diferente para garantir o sucesso do tratamento (12).

Na prática clínica veterinária os médicos deparam-se com animais de diferentes pesos, diferentes espécies, diferentes raças dentro de cada espécie, o que dificulta a escolha do tratamento mais adequado, dentro do que está disponível no mercado. Os medicamentos manipulados são um sinal de adaptação à realidade e de visão de futuro, preenchendo lacunas terapêuticas não disponibilizadas pela indústria farmacêutica.

Os medicamentos manipulados, que são considerados dispendiosos, acabam por não ficar assim tão caros quando comparados aos restantes MUV. Apresentam-se nas dosagens e quantidades exatas para o tempo certo de tratamento, logo, evitam desperdícios. Além disso, no caso do cálculo do preço dos manipulados, quanto maior a quantidade de medicamento feita, mais barata fica cada dose individual.

O veterinário diagnostica o problema no animal, escolhe o tratamento a seguir, aplica-o e depois faz o seguimento da sua evolução. A responsabilidade e exclusividade da prescrição de uma fórmula magistral ou medicamento manipulado é do médico veterinário. Quando este profissional de saúde opta por medicamentos manipulados é porque eles têm os seguintes benefícios (9, 16):

- Asseguram que o tratamento prescrito tem a duração exata indicada e que não se transforma mais tarde em “automedicação” sem a indicação do veterinário.
- Permitem versatilidade na escolha da melhor forma farmacêutica e concentrações adaptadas a cada doente.
- Permitem efetuar associações de fármacos não existentes no mercado.
- Possibilitam a prescrição de medicamentos que tenham sido descontinuados, em rutura de *stock* ou não existentes em Portugal, desde que as suas substâncias ativas (s.a.) estejam registadas na Farmacopeia Portuguesa.

O uso de medicamentos manipulados em medicina veterinária aporta igualmente benefícios para o próprio animal e para o tutor do mesmo. Na perspetiva do animal, os medicamentos manipulados permitem individualizar a medicação, adequando ao peso e preferências do animal (e.g. aroma), traduzindo-se numa redução do stresse no momento da administração do medicamento e numa melhor adesão à terapêutica. Do ponto de vista do tutor, o ato de administrar o medicamento ao animal é mais tranquilo e, como já referido, o facto de ser prescrito o manipulado somente para a duração exata do tratamento permite evitar desperdícios e maiores gastos (9, 16).

1.5 Suspensões orais

Como já foi abordado em 1.2, os medicamentos disponíveis comercialmente não satisfazem todas as necessidades terapêuticas em medicina veterinária. Muitos animais recusam a ingestão de formas farmacêuticas sólidas e as doses podem variar em função da espécie e da raça do animal em questão, assim como do seu metabolismo ou diferente propensão para os efeitos secundários. Nestes casos, é necessário fazer um ajuste das doses e uma cuidada seleção do veículo e dos excipientes utilizados.

Uma forma farmacêutica líquida facilita a administração oral do medicamento pretendido, permite uma dosagem individualizada e previne complicações metabólicas e efeitos secundários resultantes de uma administração pouco precisa (17). A manipulação de fórmulas magistrais, tal como as suspensões orais, é fundamental para oferecer soluções dirigidas a cada animal.

As formas farmacêuticas líquidas são das mais fáceis de preparar no laboratório de uma farmácia comunitária e também das mais fáceis de administrar aos animais de companhia. Geralmente, a sua biodisponibilidade oral é elevada, sendo maior para as soluções, seguidas das suspensões (18).

No entanto, o desenvolvimento de medicamentos líquidos para administração oral é um grande desafio: o farmacêutico tem a responsabilidade de disponibilizar uma forma farmacêutica de fácil administração e sabor agradável, que assegure uma dose adequada ao longo de todo o tratamento, que garanta a segurança dos animais e que minimize os efeitos secundários.

As suspensões são dispersões estáveis de um sólido finamente dividido num veículo líquido, normalmente uma solução aquosa. As suspensões podem estar “prontas a usar” ou necessitarem de reconstituição. No último caso, o fármaco está, juntamente com os outros ingredientes da preparação, no estado sólido e é reconstituído com água no momento da dispensa ao doente (18).

As suspensões orais manipuladas apresentam várias vantagens, tais como:

1. Precisão na dosagem e uniformidade do conteúdo durante o tratamento: as suspensões deverão ter uma tixotropia e uma viscosidade adequada que evite a rápida sedimentação das substâncias ativas e permita uma fácil homogeneização em cada administração (17).
2. Melhor compatibilidade: as suspensões poderão ser ajustadas a diferentes pHs, dependendo das características dos fármacos. Geralmente apresentam um pH ligeiramente ácido que se assemelhe ao pH do estômago, sendo que a maioria das s.a. são estáveis a pH ácido. Para s.a. instáveis a pH ácido (ex.: omeprazol), pode preparar-se uma fórmula alcalina (17).
3. Conforto para o animal: é possível a adição de aromatizantes às suspensões, proporcionando um sabor agradável e uma administração mais fácil (Figura 2). Este aroma pode inclusivamente ser personalizado para o animal, conforme o dono descreva os seus gostos. Os aromas permitem também mascarar o sabor dos fármacos e, eventualmente, dos excipientes.
4. Fácil de preparar e administrar: as farmácias podem ter veículos base fáceis de preparar (com agentes suspensores, edulcorantes, conservantes, etc.) disponíveis e prontos a utilizar, que só requerem a dispersão da substância ativa.



Figura 2 – Administração de uma forma farmacêutica oral a um cão através de uma seringa (19).

A preparação de suspensões orais manipuladas para administrar fármacos aos animais pode prevenir erros de medicação habitualmente cometidos, por exemplo, quando se tenta adaptar MUH à terapia animal.

É sempre preferível usar um veículo apropriado e feito de propósito para administrar a animais, do que adaptar uma especialidade farmacêutica já disponível no mercado e fazer um manipulado com ela, como por exemplo, pulverizar comprimidos e adicioná-los a uma fase líquida. Daí podem advir várias incompatibilidades, tais como: interações entre o veículo, conservante, tampão de pH, aromatizante, agente suspensor, viscosificante, a embalagem e o fármaco (20).

No caso de as farmácias possuírem previamente alguns destes veículos nos seus laboratórios só precisam de acrescentar as s.a. aquando do surgimento das prescrições, o que permite poupar tempo e recursos, não só à própria farmácia como também ao proprietário do animal.

As suspensões possuem um conjunto de matérias-primas base (que serão desenvolvidas em maior pormenor no capítulo 1.5.1 (Excipientes), tais como (18):

- ✚ Substância ativa
- ✚ Agente molhante (ex.: laurilsulfato de sódio, polissorbato, etc.)
- ✚ Agente suspensor (ex.: bentonite, metilcelulose, etc.)
- ✚ Agente floculante (ex.: goma xantana, polissorbato 80, etc.)
- ✚ Edulcorante (ex.: sorbitol, aspartame, etc.)
- ✚ Conservante (ex.: álcool benzílico, parabenos, etc.)
- ✚ Tampão (ex.: ácido cítrico anidro, fosfato dissódico dodeca-hidratado, etc.)
- ✚ Aromatizante (ex.: aroma de citrinos, aroma de atum, etc.)
- ✚ Corante (ex.: Ponceau 4R, Tartracina, etc.)

Limitações da administração oral de medicamentos a animais

É de referir que, tal como para as outras vias, existem possíveis desvantagens na administração oral de medicamentos, tais como: início de ação mais lento quando comparado à administração parentérica; efeito de primeira passagem significativo para as substâncias metabolizadas por esta via, com consequente redução da sua eficácia; diminuição da absorção das s.a. devido à sua polaridade ou interferência com a

absorção de alimentos; falta de adesão voluntária à terapêutica devido à falta de palatabilidade ou irritação local; falta de absorção sistêmica através do trato gastrointestinal; degradação de s.a. pelas enzimas digestivas e acidez do estômago e incapacidade para usar esta via em animais que estejam inconscientes ou tenham diarreia ou emese clinicamente significativas (21).

1.5.1 Excipientes

Excipiente é, de acordo com o Decreto-Lei n.º 128/2013, de 5 de setembro, qualquer componente de um medicamento, que não a substância ativa e o material da embalagem (22). O INFARMED descreve excipiente como toda a matéria-prima que incluída nas formas farmacêuticas se junta às substâncias ativas ou suas associações para servir-lhes de veículo, possibilitar a sua preparação e a sua estabilidade, modificar as suas propriedades organoléticas ou determinar as propriedades físico-químicas do medicamento e a sua biodisponibilidade (23).

Estas matérias-primas não deverão ser consideradas apenas como ingredientes inertes ou inativos, sendo essencial que os formuladores conheçam em detalhe as suas propriedades físico-químicas, assim como a sua segurança, manipulação e questões legais (24).

Os excipientes utilizados na produção de MUV são genericamente os mesmos que são utilizados na produção de MUH, salvo algumas exceções. É interessante referir o caso particular do propilenoglicol (PG), que é um solvente orgânico muito utilizado nos MUH (8).

O PG está presente nos MUV (ex.: Panacur PetPasta® (Fenbendazol) (25)), nos MUH que habitualmente se administram a animais (ex.: Diazepam Labesfal®, solução injetável (26)) e até está presente na alimentação industrial semi-húmida para gatos (27). No entanto, há estudos que indicam que o PG apresenta toxicidade em gatos (28, 29), mas apenas um artigo publicado de um caso de intoxicação em cão (30).

Um estudo com 21 gatos adultos (29), mostrou evidências de que a ração alimentar contendo PG induz a formação de corpos de Heinz, o que leva a uma diminuição do número de glóbulos vermelhos nos gatos. Este efeito é dose-dependente e começa, pelo menos, nas concentrações de 6% (PG por peso seco de ração).

Em todos os mamíferos, o PG é metabolizado da mesma forma. Para níveis de ingestão desta molécula de 8 mg/Kg/dia, os gatos revelam depressão e ataxia. Estes

resultados são relevantes não só para os animais que ingerem medicamentos e alimentos com PG, como também podem ser extrapolados para humanos que utilizem medicamentos com PG (31).

1.5.1.1 Agente suspensor

Os agentes suspensores são excipientes adicionados à suspensão para aumentar a viscosidade e retardar a sedimentação. Várias substâncias podem funcionar como agentes suspensores, tais como derivados da celulose, argilas, gomas, polímeros sintéticos, etc. A maioria destes agentes são aniônicos ou não têm carga e são eficazes em concentrações de 1 a 5% (18).

O Avicel[®] RC-591 (ARC) (constituído por celulose microcristalina (CMC) + carboximetilcelulose sódica (CMC Na)) entre 1-2% na fórmula final é ideal para ser aplicado em suspensões orais, sendo também utilizado em emulsões, sprays nasais e cremes. Este composto é regulador da viscosidade, tem características tixotrópicas (passa a um estado de maior fluidez por agitação mecânica, voltando ao estado inicial logo que acaba essa ação (32)), estável no calor e a temperaturas de congelação, proporciona estabilidade durante longo período de tempo, hidrata rapidamente, estável a valores de pH 4 - 11, não tem cheiro nem sabor (33). O ARC é um coloide orgânico dispersível em água. A CMC proporciona uma dispersão estruturada e a CMC Na facilita a dispersão e serve como um coloide protetor (Figura 3).

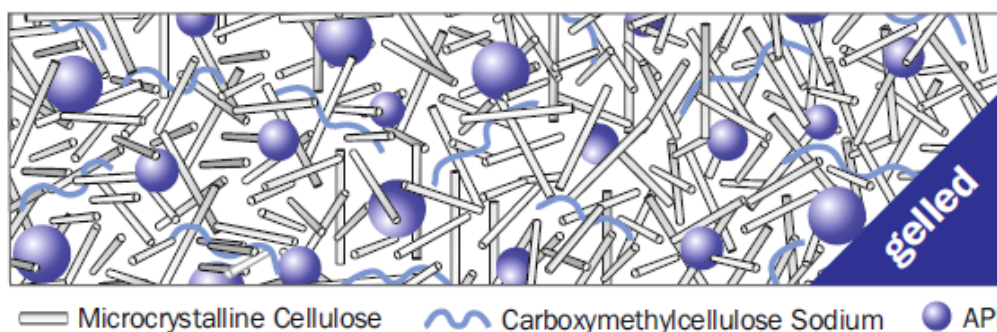


Figura 3 – Representação esquemática do mecanismo de estabilização de um fármaco na rede do Avicel[®] RC-591, em que API = *Active pharmaceutical ingredient* (34).

Na presença de água e agitação moderada, as partículas de pó do ARC intumescem formando uma dispersão de microcristais de celulose. Estes microcristais criam uma estrutura em rede, estável para usar em suspensões. Concentrações ARC > 1% originam geles tixotrópicos (33).

Ao administrar estas preparações com seringa, por exemplo, a viscosidade da suspensão diminui e a preparação liquidifica (ao empurrar o êmbolo) (Figura 4). Este comportamento tixotrópico permite uma fácil administração e um engolir rápido e completo da preparação, uma vez que, dentro da boca, deixando de ser exercida uma força sobre a suspensão, a viscosidade aumenta novamente, o que a impede de escorrer para fora (34).

A adição à água é fácil, no entanto, é aconselhável adicionar o ARC antes das outras matérias-primas da formulação, excetuando os conservantes. Se assim não for, a função de agente suspensor do ARC pode ser afetada, não se formando um sistema tixotrópico nem um veículo estruturado (33).

Um coloide protetor previne a floculação e deve ser adicionado imediatamente após a dispersão do ARC. As melhores opções são a carboximetilcelulose sódica e a goma xantana e devem ser adicionadas entre 15-20% do peso do ARC. Estes coloides também funcionam como agentes suspensores (33).

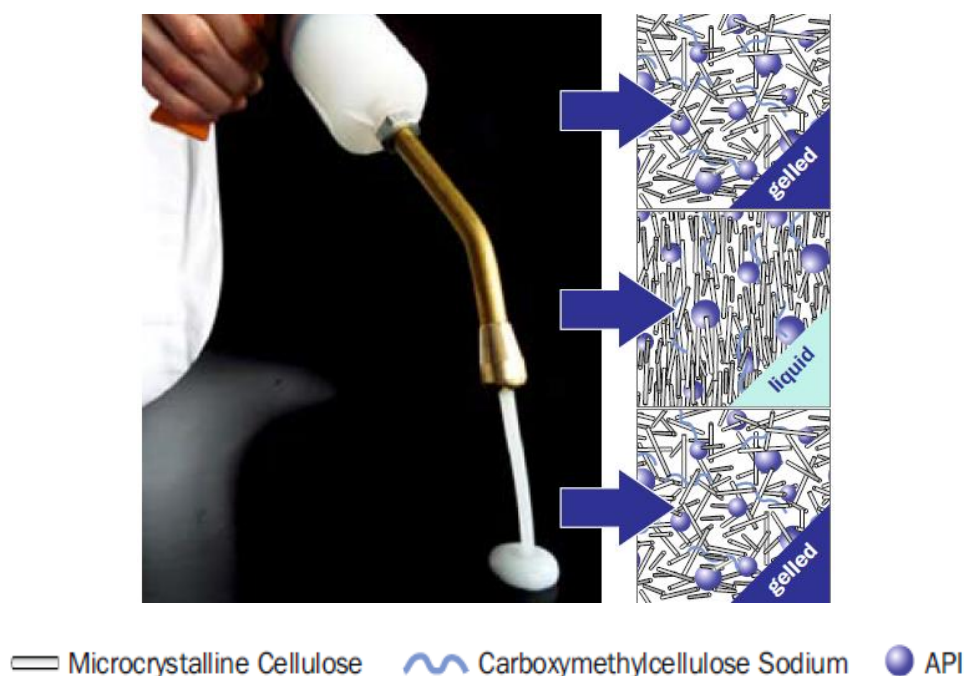


Figura 4 – Extrusão de uma suspensão com ARC de uma pistola doseadora “drench gun”, em que API = *Active pharmaceutical ingredient* (34).

Alguns fatores podem interferir com a obtenção de uma boa dispersão (33) como uma agitação inadequada, dureza da água/eletrólitos (catiões podem causar floculação), ordem de adição errada (dispersar o ARC sempre primeiro). Para prevenir a floculação adicionar coloides protetores a 15-20% p/p do ARC. Se o pH for inferior a 4, deve adicionar-se um coloide protetor.

1.5.1.2 Agente floculante / suspensor

Os agentes floculantes permitem que as partículas em suspensão se unam em agregados soltos ou flocos. Estes flocos sedimentam rapidamente, mas formam um sedimento largo e fofo que se redispersa facilmente. Substâncias que funcionam como agentes floculantes incluem eletrólitos, agentes tensioativos e polímeros, ou seja, genericamente, as mesmas que funcionam como agentes molhantes e suspensores (18).

Devido às suas características foi escolhida como agente floculante a **goma xantana** (GX).

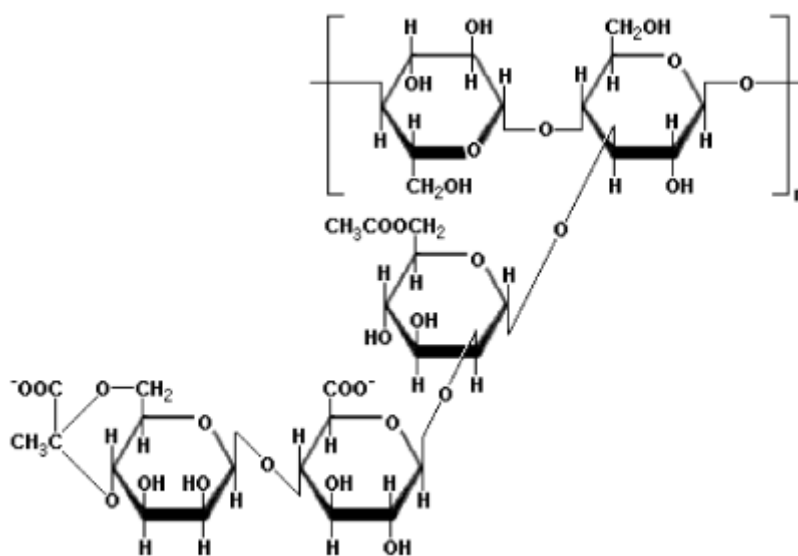


Figura 5 - Estrutura química da goma xantana ($\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{O}_{29}$) $_n$.

A GX é muito utilizada como agente suspensor e estabilizante em formulações farmacêuticas orais e tópicas, cosméticos e alimentos (Figura 5). Também é usada como espessante e emulsificante. É atóxica, compatível com a maioria das matérias-

primas de uso farmacêutico e tem boa estabilidade e viscosidade numa grande amplitude de pH (3 - 12) e temperatura (10 - 60°C).

Os geles de GX apresentam comportamento pseudoplástico. A viscosidade diminui com o aumento da velocidade de corte e volta ao normal quando deixa de ser exercida tensão sobre a preparação. A solução aquosa a 1% m/v a 25°C, deve apresentar um pH entre 6,0 e 8,0 e a viscosidade (dinâmica) deve ser entre 1200 a 1600 mPa.s. A GX é aniônica e normalmente não é compatível com agentes tensioativos, polímeros e conservantes catiónicos, ocorrendo precipitação. Geralmente deve dissolver-se a GX na água antes de adicionar os outros componentes da formulação (24).

A dose máxima oral recomendada de GX para seres humanos é de 10 mg/Kg de peso vivo. No entanto, no presente trabalho, interessa particularmente os dados obtidos com os ensaios em animais. Nos testes em coelhos não foram observadas irritações oculares e nos porquinhos-da-índia não foi detetada alergia cutânea após contacto com a pele. Não foram detetados efeitos secundários após ingestão prolongada em ratos (até 1000 mg/Kg/dia) e em cães (até 1000 mg/Kg/dia) nem após estudos reprodutivos de 3 gerações em ratos (até 500 mg/Kg/dia). As doses letais para 50% da população (LD₅₀) são: cão, oral: > 20 g/Kg; rato, oral: > 45 g/Kg e ratinho, oral: > 1 g/Kg (24).

1.5.1.3 Agente molhante

Os agentes molhantes são agentes tensioativos que reduzem a tensão superficial de um meio aquoso, revestem a superfície das partículas em suspensão aumentando a capacidade da água de as molhar. O objetivo é retirar o ar da superfície da partícula e separá-la das partículas adjacentes, usando a menor concentração necessária (18).

Como os agentes molhantes são tensioativos, eles são adsorvidos na superfície das partículas e, dependendo da sua concentração, podem revestir parcialmente esta superfície ou formar uma monocamada completa. Os agentes tensioativos podem possuir carga iónica, e neste caso a superfície da partícula vai ficar com a mesma carga, ou então podem ser neutros (por exemplo **Tween® 80**, polissorbato 80), sendo que neste caso a superfície da partícula será hidrófila mas sem carga iónica (18).

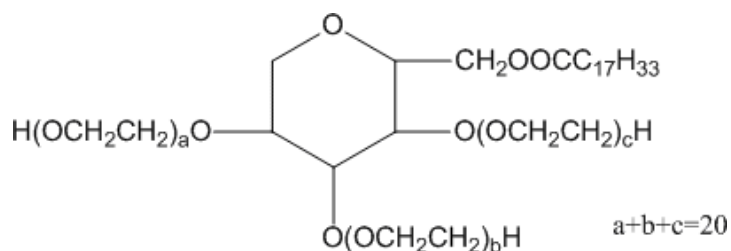


Figura 6 - Estrutura química do polissorbato 80 ($\text{C}_{64}\text{H}_{125}\text{O}_{26}$).

O polissorbato 80 é um agente tensioativo do tipo O/A não iónico muito utilizado em cosméticos, produtos alimentares e em preparações farmacêuticas orais, parentéricas e tópicas como agente emulsionante, solubilizante e agente molhante (Figura 6). Quando utilizado como agente molhante, o Tween[®] 80 deverá estar na gama de concentrações 0,1 – 3% (24). A sua viscosidade é de cerca de 400 mPa.s a 25 °C (35). Quando em solução aquosa a 5% m/v tem um pH entre 6,0 e 8,0 (24).

O Tween[®] 80 é, de uma forma geral, considerado não tóxico e não irritante. No entanto, estão descritos casos esporádicos de toxicidade moderada por via endovenosa, por ingestão oral, irritação ocular e possíveis efeitos mutagénicos (dados para seres humanos). No caso dos animais, as LD_{50} são de 25 e de 7,6 g/Kg de peso vivo para as vias oral e intraperitoneal (IP) no ratinho, respetivamente, e de 1,8 g/Kg de peso vivo para a via IV no rato (24).

A atividade antimicrobiana dos parabenos é reduzida na presença de polissorbatos (24).

1.5.1.4 Edulcorante

Os edulcorantes são adicionados às suspensões para lhes proporcionar palatabilidade, para mascarar o sabor da s.a. ou dos outros excipientes.

Os edulcorantes mais utilizados são a sacarose, a glucose, a frutose, o sorbitol e a glicerina. A Tabela 1 documenta a potência edulcorante de várias substâncias, tendo a sacarose como termo de comparação, com 100 unidades de poder edulcorante, onde podemos constatar que a frutose é o mais doce de todos os açúcares (8).

O sorbitol, o xarope de milho e a sacarose são utilizados em altas concentrações e também contribuem para a viscosidade das suspensões. Outros edulcorantes tais como a sacarina e o aspartame, usados em baixas concentrações, não afetam a viscosidade final (18).

A frutose ($C_6H_{12}O_6$) pode exercer função de aromatizante, adjuvante da dissolução, diluente em comprimidos e edulcorante (Figura 7). É utilizada em comprimidos, xaropes, soluções e suspensões. A percepção do sabor doce que proporciona é mais rápida do que a da sacarose e dextrose, o que pode contribuir para que a frutose ajude os aromatizantes a mascarar certos sabores desagradáveis (24).

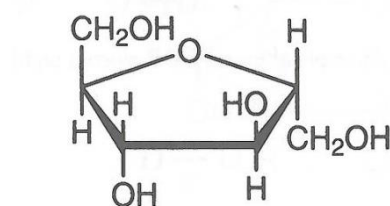


Figura 7 - Estrutura química da frutose.

A frutose é mais solúvel do que a sacarose, o que traz vantagens para xaropes ou soluções que tenham que ser conservados no frio, uma vez que retarda a cristalização das matérias-primas (24).

Tabela 1 – Poder edulcorante relativo de edulcorantes frequentemente utilizados (8).

Edulcorante	Intensidade
Maltose	30
Hidrolisado de amido hidrogenado	30 - 40
Manitol	50
Sorbitol	60
Glicerina	55 - 75
Eritritol	60 - 70
Solução de maltitol	70 - 80
Maltitol	90
Xilitol	100
Sacarose	100
Frutose	117

A frutose é higroscópica, pelo que deve ser sempre mantida em embalagens bem fechadas (24). O seu pH quando a 9% em solução aquosa será de 5,35, e a sua viscosidade quando a 10% em solução aquosa será de 1,35 mPa.s (24).

A frutose é metabolizada rapidamente, no fígado, onde é convertida em dextrose, metabolitos do ácido láctico e ácido pirúvico. A entrada no fígado e a subsequente fosforilação é insulínica. Em seres humanos saudáveis (inclui diabéticos controlados) estas vias metabólicas funcionam bem, não havendo riscos na ingestão da frutose. O consumo excessivo (> 75g/dia) pode resultar em flatulência, dor abdominal e diarreia. As doses habitualmente usadas na administração oral não parecem estar associadas a efeitos laterais em humanos no contexto da doença como a diabetes, à exceção da ocorrência de cáries e dos indivíduos intolerantes à frutose.

No que diz respeito ao paladar dos animais, um estudo (36) testou a preferência de cães jovens por edulcorantes (sacarose, lactose, frutose, maltose, glucose, ciclamato de sódio e sacarina sódica) tanto misturados na ração húmida, como em solução de água da torneira. Os cães preferiram os edulcorantes naturais face aos sintéticos, similarmente ao que indicam os estudos em humanos. Dos edulcorantes naturais misturados na ração, a maioria dos cães (80%) preferiu a frutose na concentração de 17%, seguida da lactose. No entanto, como nos seres humanos há aumento da intolerância da lactose com a idade, seria necessário realizar estudos para confirmar esta hipótese nos animais (36).

1.5.1.5 Conservantes

Os conservantes são necessários na maioria das suspensões uma vez que tanto os agentes suspensores como os edulcorantes são bons meios de crescimento para microrganismos (18). Os solventes tais como o álcool, a glicerina e o PG são muitas vezes usados como conservantes em concentrações próximas de 10% (18). Outros exemplos de conservantes são o metil e o propilparabeno, os sais de aminas quaternárias, o ácido benzoico, etc.

Tanto o metil como o propilparabeno são amplamente utilizados como conservantes em cosméticos, comida e preparações farmacêuticas. Podem ser usados isoladamente ou em conjunto. A atividade antimicrobiana aumenta à medida que aumenta o tamanho da cadeia carbonada, mas a solubilidade na água diminui.

Daí ser frequente uma mistura de parabenos para assegurar uma preservação mais efetiva (24).

Estes conservantes são eficazes numa gama alargada de pH (4 - 8) e têm um largo espectro de atividade antimicrobiana, apesar de serem mais eficazes contra leveduras e fungos (24, 37). A eficácia destes conservantes diminui com o aumento do pH.

Tanto o metilparabeno como o propilparabeno são praticamente insolúveis em água. Uma alternativa para usá-los nas preparações farmacêuticas seria em solução de propilenoglicol que tem a vantagem deste apresentar propriedades antimicrobianas, atuando sinergicamente com os parabenos (38). Nos casos em que não é possível usar propilenoglicol devido à sua eventual toxicidade (ver capítulo 1.5.1), pode substituir-se por metilparabeno sódico e propilparabeno sódico que, por estarem sob a forma de sais, se dissolvem facilmente em meio aquoso não necessitando do uso do PG (Figura 8). No entanto, estes sais aumentam o pH das preparações (24).

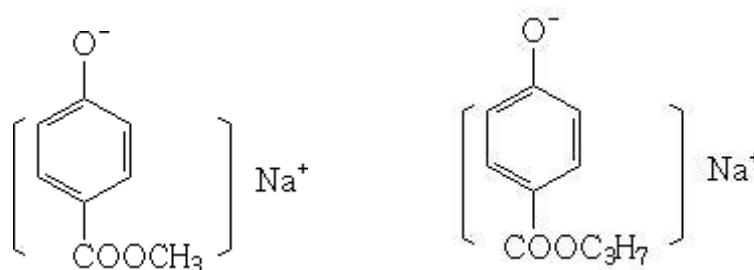


Figura 8 - Estrutura química do metilparabeno sódico (C₈H₇O₃Na), à esquerda, e do propilparabeno sódico (C₁₀H₁₁NaO₃), à direita.

Tanto o metil como o propilparabeno são higroscópicos e fotossensíveis pelo que devem ser conservados em embalagens bem fechadas (37).

Os parabenos não são mutagénicos, teratogénicos nem carcinogénicos. As reações de sensibilidade aos parabenos são raras, sendo as mais descritas as reações de dermatite de contacto. Porém, dado o uso generalizado destes conservantes, estas reações são incomuns. A classificação dos parabenos como altamente sensibilizantes poderá estar sobrestimada (24).

Os resultados dos testes em animais foram os seguintes: LD₅₀ (cão, oral): 3,0 g/Kg; LD₅₀ (ratinho, IP): 0,96 g/Kg; LD₅₀ (ratinho, SC): 1,20 g/Kg (24).

1.5.1.6 Aromatizantes

Os aromatizantes são compostos adicionados às preparações farmacêuticas e aos alimentos de forma a modificar o seu sabor e aroma.

Os aromatizantes podem ser classificados como naturais (se derivados de frutas, vegetais, etc.) ou artificiais (aromas sintéticos) (39). Aromas para uso farmacêutico podem ser líquidos (óleos essenciais, extratos fluidos, tinturas e destilados), sólidos (vanilina cristalina, canela em pó e extrato de limão desidratado) ou pastas (resinas). Os aromas líquidos são os mais utilizados porque se difundem rapidamente no substrato e estão disponíveis aromas lipófilos ou hidrófilos (8).

O gosto agradável de um medicamento é uma das qualidades mais importantes para o cumprimento da terapêutica, principalmente quando se trata de preparações líquidas. Os animais, como não têm a capacidade de entender que a toma do medicamento é essencial para a sua saúde, facilmente se recusam a ingerir algo que não gostem. Deste modo, as preparações medicamentosas devem ser apresentadas ao animal da forma mais agradável possível, para que o dono não se veja obrigado a misturá-las com outros produtos, nomeadamente alimentos. Esta prática, muito recorrente, pode dar origem a possíveis incompatibilidades (32). Por outro lado, associar um medicamento com sabor desagradável a um qualquer alimento pode levar a que o animal, no futuro, se recuse a consumi-lo.

As preparações farmacêuticas administradas oralmente (*per os*), como, aliás, todos os produtos que se ingerem, só raramente despertam sensações exclusivamente olfativas ou gustativas (32). No caso de medicamentos destinados a ser ingeridos é no seu paladar (conjunto de sensações olfato-gustativas) que o farmacêutico deve atuar para modificar ou corrigir o gosto e, desta forma, aumentar a adesão à terapêutica.

No desenvolvimento das suspensões que se propôs fazer neste trabalho, um dos problemas que se levantou foi saber que aromatizantes e edulcorantes se deveriam juntar à fórmula para mascarar as características organoléticas dos fármacos testados. Outra questão que surgiu foi saber quais as preferências de paladar dos animais alvos, pelo que, inicialmente, se procedeu a uma pesquisa bibliográfica ao que se seguiu a elaboração de Testes de Preferência (ver capítulo 3.2.4) em cães e gatos. No entanto, antes de se dar início a estes testes, as várias concentrações de edulcorante e dos aromas foram testadas em humanos, dada a escassez/ausência de estudos publicados que se refiram à quantidade destes excipientes quando destinados a animais de companhia.

Nos EUA há várias empresas especializadas em manipulação que fornecem aromas às farmácias e, com eles, *kits* completos que incluem já seringas para administração e material publicitário (Figura 9) especialmente direcionados para uso veterinário.

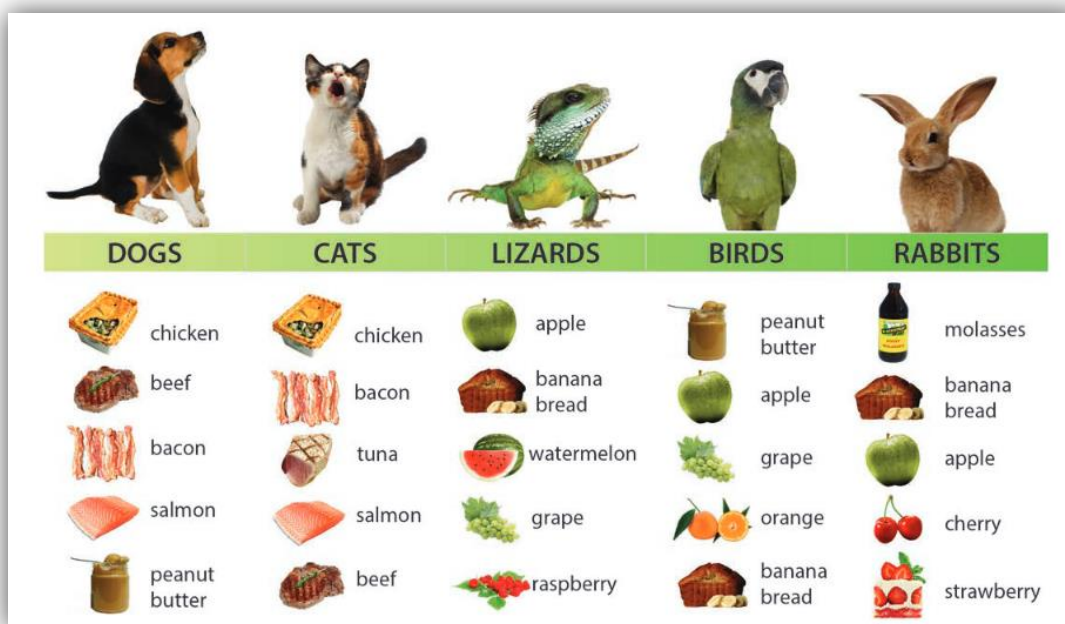


Figura 9 - Preferência de sabores de alguns animais de companhia (fonte: catálogo FLAVORx) (40).

Na literatura são referidas ainda as seguintes preferências (9, 41):

- Cão – fígado, queijo, chocolate, óleo de fígado de bacalhau, morango e framboesa.
- Gato – óleo de fígado de bacalhau, sardinha, fígado, queijo, manteiga de amendoim e banana.

A possibilidade de se fazer manipulados na farmácia, sob a forma de suspensões, em que se pode adicionar o aroma escolhido pelo dono do animal (baseado no conhecimento das preferências do mesmo) proporciona um serviço inovador e único, que não só beneficia a farmácia em si como também os seus utentes. Estaremos, deste modo, a aproximar-nos de um tratamento personalizado, que evita o stresse habitualmente associado à administração de medicamentos a animais.

1.5.1.7 Corante

Os corantes destinam-se a proporcionar uma melhor aparência ao produto, do ponto de vista estético. Como são catiões ou aniões relativamente grandes, estes agentes podem ser quimicamente incompatíveis com os outros componentes das preparações (18). Os corantes têm que respeitar a legislação europeia em vigor para os MUH, também aplicável aos MUV (42).

Nem sempre é necessário colorir um medicamento mas, se se adicionar um corante, este deve ser combinado com o aromatizante (por exemplo verde para menta). Os melhores resultados são obtidos usando quantidades muito pequenas de pó, que resultará numa cor ligeira a moderada (39).

O **Ponceau 4R Conacert** ($C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$) é um corante alimentar vermelho que pode ser adicionado a bebidas e alimentos, autorizado na Europa (Figura 10).

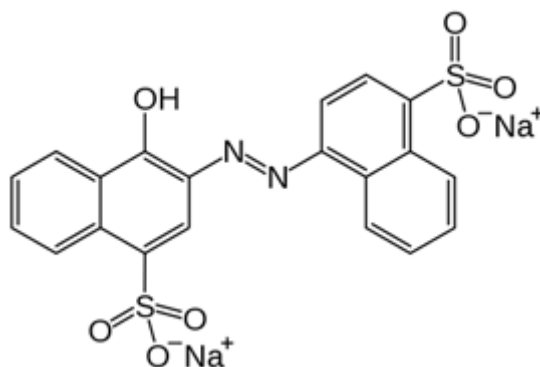


Figura 10 - Estrutura química do corante Ponceau 4R Conacert.

Os corantes artificiais estão muitas vezes associados a reações de intolerância em indivíduos sensíveis e efeitos secundários relacionados com o comportamento das crianças. No entanto, não há dados científicos que comprovem que o Ponceau 4R tenha estes efeitos. Este composto é pouco absorvido no trato digestivo, apresentando baixa toxicidade, sem evidência de carcinogenicidade, genotoxicidade, neurotoxicidade ou toxicidade reprodutiva (43). A dose máxima recomendada para seres humanos é de 4 mg/Kg de peso vivo/dia (44).

Em estudos realizados com animais de laboratório, o Ponceau 4R mostrou-se pouco absorvido no trato gastrointestinal, onde é reduzido de forma anaeróbica pela microflora. Não se acumula em nenhum tecido e, tal como em humanos, não demonstrou possuir carcinogenicidade, genotoxicidade, neurotoxicidade ou toxicidade reprodutiva (44).

1.5.2 Substância ativa

Foram mencionadas pelos médicos veterinários no inquérito maioritariamente 3 s.a.: metronidazol, tramadol e doxiciclina. Escolheu-se trabalhar, no âmbito desta tese, com o metronidazol como fármaco a testar com o veículo desenvolvido.

O farmacêutico está habituado às doses usuais dos tratamentos aplicados em medicina humana. Contudo, não se deve extrapolar empiricamente as doses de fármacos a usar nos animais, com base na dose em mg/Kg. Os fatores que devem ser considerados incluem diferenças relacionadas com a farmacocinética (absorção tópica e parentérica, metabolismo, eliminação) e a ocorrência de reações de toxicidade. À semelhança do que existe para humanos, em medicina veterinária encontram-se disponíveis inúmeros livros e formulários onde é possível consultar a dose de cada fármaco tendo em conta a espécie, o peso e a doença do animal (ex.: *Small Animal Formulary*, *The Veterinary Formulary*, *Plumb's Veterinary Handbook*) (7, 45, 46).

1.5.2.1 Metronidazol

O metronidazol (Figura 11) é um anti-infecioso utilizado no tratamento de infeções do trato gastrointestinal causadas por *Giardia* spp., *Clostridium perfringens* e *Clostridium difficile*. Também se utiliza no tratamento de infeções do trato urogenital, da cavidade oral, da garganta e da pele causadas por bactérias anaeróbias obrigatórias (por exemplo *Clostridia* spp.) sensíveis a este composto. A sua administração pode provocar as seguintes reações adversas: vômitos, hepatotoxicidade, neutropenia e sinais neurológicos (47).

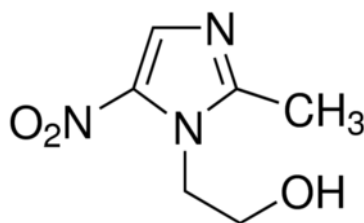


Figura 11 - Estrutura química do metronidazol (C₆H₉N₃O₃).

No mercado dos MUHs, o metronidazol existe sob a forma de especialidade oral sólida designada Flagyl[®], doseada a 250 mg. No caso do mercado português dos

MUV, só recentemente (outubro 2015) foi introduzida a especialidade veterinária com metronidazol, Metrobactin[®], que se encontra disponível em comprimidos de 250 e 500 mg destinados a cães e gatos (47).

De seguida, serão apresentadas as doses recomendadas para tratamentos com metronidazol para cães e gatos. Para assegurar a administração da dose correta, o peso corporal do animal deve ser determinado com a maior precisão possível.

A dose oral de metronidazol preconizada é de 15-25 mg/Kg, cada doze horas, para cães e de 8-10 mg/Kg, cada doze horas, para gatos (45, 47). No caso do Metrobactin[®] está recomendada uma dose diária de 50 mg/Kg, tanto para o cão como para o gato, sendo referido que a dose diária pode ser dividida para administração duas vezes por dia (47). Nas tabelas seguintes estão representadas as doses de metronidazol a administrar por via oral para diferentes pesos de cães e gatos (Tabela 2 e Tabela 3), bem como a fração de comprimido de 250 mg e 500 mg a administrar por cada dose.

Tabela 2 – Doses de metronidazol a administrar por via oral a cães e respetivas frações de comprimidos de 250 mg (Cp 250) e 500 mg (Cp 500).

Peso (Kg)	15 mg/Kg			20 mg/Kg			25 mg/Kg			50 mg/Kg		
	mg	Cp 250	Cp 500	mg	Cp 250	Cp 500	mg	Cp 250	Cp 500	mg	Cp 250	Cp 500
4	60	0,2	0,1	80	0,3	0,2	100	0,4	0,2	200	0,8	0,4
5	75	0,3	0,2	100	0,4	0,2	125	0,5	0,3	250	1,0	0,5
6	90	0,4	0,2	120	0,5	0,2	150	0,6	0,3	300	1,2	0,6
7	105	0,4	0,2	140	0,6	0,3	175	0,7	0,4	350	1,4	0,7
8	120	0,5	0,2	160	0,6	0,3	200	0,8	0,4	400	1,6	0,8
9	135	0,5	0,3	180	0,7	0,4	225	0,9	0,5	450	1,8	0,9
10	150	0,6	0,3	200	0,8	0,4	250	1,0	0,5	500	2,0	1,0
15	225	0,9	0,5	300	1,2	0,6	375	1,5	0,8	750	3,0	1,5
20	300	1,2	0,6	400	1,6	0,8	500	2,0	1,0	1000	4,0	2,0
25	375	1,5	0,8	500	2,0	1,0	625	2,5	1,3	1250	5,0	2,5
30	450	1,8	0,9	600	2,4	1,2	750	3,0	1,5	1500	6,0	3,0
35	525	2,1	1,1	700	2,8	1,4	875	3,5	1,8	1750	7,0	3,5
40	600	2,4	1,2	800	3,2	1,6	1000	4,0	2,0	2000	8,0	4,0

Legenda: Vermelho: doses inferiores a ¼ de comprimido. Azul: doses entre ¼ e ½ comprimido. Verde: doses superiores ou iguais a 3 comprimidos.

Tabela 3 – Doses de metronidazol a administrar por via oral a gatos e respetivas frações de comprimidos de 250 mg (Cp 250) e 500 mg (Cp 500).

Peso (Kg)	8 mg/Kg			10 mg/Kg			25 mg/Kg			50 mg/Kg		
	mg	Cp 250	Cp 500	mg	Cp 250	Cp 500	mg	Cp 250	Cp 500	mg	Cp 250	Cp 500
0,5	4	0,02	0,01	5	0,02	0,01	12,50	0,05	0,03	25	0,10	0,05
0,75	6	0,02	0,01	7,5	0,03	0,02	18,75	0,08	0,04	37,5	0,15	0,08
1	8	0,03	0,02	10	0,04	0,02	25	0,10	0,05	50	0,20	0,10
2	16	0,06	0,03	20	0,08	0,04	50	0,20	0,10	100	0,40	0,20
3	24	0,10	0,05	30	0,12	0,06	75	0,30	0,15	150	0,60	0,30
4	32	0,13	0,06	40	0,16	0,08	100	0,40	0,20	200	0,80	0,40
5	40	0,16	0,08	50	0,20	0,10	125	0,50	0,25	250	1,00	0,50
6	48	0,19	0,18	60	0,24	0,12	150	0,60	0,30	300	1,20	0,60
7	56	0,22	0,11	70	0,28	0,14	175	0,70	0,35	350	1,40	0,70
8	64	0,26	0,13	80	0,32	0,16	200	0,80	0,40	400	1,60	0,80
9	72	0,29	0,14	90	0,36	0,18	225	0,90	0,45	450	1,80	0,90
10	80	0,32	0,16	100	0,40	0,20	250	1,00	0,50	500	2,00	1,00

Legenda: Vermelho: doses inferiores a ¼ de comprimido. Azul: doses entre ¼ e ½ comprimido.

Tabela 4 – Tabela resumo das doses unitárias de metronidazol a administrar aos grupos de animais de companhia estudados (doses mínimas e máximas).

Metronidazol		
Animal	Dose mínima:	Dose máxima:
Cão	60 mg	2000 mg
Gatos	4 mg	500 mg

Pela análise da Tabela 2 vemos que quando considerada a dose mais baixa de 15 mg/Kg para cães de menor porte (1-8 Kg) há a necessidade de fracionar os comprimidos de 500 mg em frações inferiores a ¼ de comprimido, e esta necessidade mantém-se também para os comprimidos de 250 mg, onde é necessário obter frações entre ¼ e ½ comprimido. Por outro lado, quando consideramos os cães de maior porte (20-40 Kg) e doses superiores de 25 e 50 mg/Kg é necessária a administração de mais de 3 comprimidos por toma. Para os gatos as doses a administrar são naturalmente mais baixas, pelo que comprimidos de 500 mg não se mostram adequados. A análise da Tabela 3 mostra que para animais com peso inferior a 5 Kg é necessário um fracionamento inferior a ¼ de comprimido de 250 mg para a maioria das doses (8, 10 e 25 mg/Kg).

O que se passa com o metronidazol (Tabela 2, Tabela 3 e Tabela 4) passa-se da mesma forma para muitas outras s.a. que são utilizadas diariamente no âmbito veterinário. Como tal, a análise destas tabelas reforça a pertinência para a preparação de veículos adaptados a estes grupos de animais e passíveis de serem preparados rapidamente nas farmácias comunitárias por simples adição das s.a., de forma a serem disponibilizados em tempo útil aos animais que deles possam precisar.

1.6 Testes de preferência

Apesar de os cães (*Canis familiaris*) e gatos (*Felis catus*) viverem em nossas casas e se terem tornado membros da família para muitos proprietários, eles diferem dos seres humanos de muitas maneiras.

O cão tem as suas origens como caçador organizado em matilhas e é capaz de comer grandes quantidades de alimentos num curto espaço de tempo. O cão também é um oportunista para refeições e complementa a sua dieta com coisas aparentemente nada comestíveis: relva, bagas, insetos e fezes dos outros animais. Eles são conhecidos por mastigar ossos, peles e outras partes de animais. Na boca dos cães há grandes caninos e pré-molares pequenos e eles lubrificam a sua comida com uma saliva serosa, sem amilase, produzida a partir de quatro glândulas salivares primárias, localizadas em toda a cavidade oronasal. Não ficam muito tempo a mastigar e a saborear a comida: os cães são conhecidos por devorar os alimentos de forma voraz, regurgitar e voltar a consumir quando estão longe de outros animais (48).

O gato é geralmente um caçador solitário que espera que as suas presas se mostrem. Uma vez mortas come-as rapidamente e, no caso dos pequenos roedores, este predador pode ser visto a ingeri-los intactos. Para presas maiores o gato rasga a carne e consome-a em grandes porções. Não fica muito tempo a saborear a refeição. Os gatos têm grandes caninos, incisivos pequenos e pré-molares que se assemelham a uma faca serrilhada na aparência. Os felídeos têm um sentido olfativo apurado e, apesar de não tão desenvolvido como o dos cães para a caça e a localização, o sistema olfativo do gato é ajustado especificamente para detetar aromas novos e/ou não confiáveis. Eles muitas vezes cheiram a sua comida exaustivamente para verificar a sua frescura e segurança. O gato não é um comedor oportunista e ambicioso como o cão, mas antes seletivo sobre o que finalmente irá ingerir. Em muitos casos esse comportamento é aprendido e impresso durante os primeiros tempos de vida e irá acompanhá-lo ao longo de várias gerações. O gato tem uma estrutura de glândulas salivares semelhante à do cão. A saliva é produzida por quatro glândulas primárias e não produz amilase. O gato tem recetores de sabor semelhantes aos do cão, mas não tem recetores do sabor doce funcionais (48).

Os gatos são na sua essência caçadores, carnívoros obrigatórios, pelo que muitas vezes parecem seres estranhos em nossas casas, porque lhes oferecemos uma grande variedade de alimentos processados e o seu comportamento relutante de consumo passa a ideia de que eles são “esquisitos com a comida” (48).

O grande desafio com os testes de palatabilidade é: como discernir a mente do cão ou gato?

O sabor descreve a sensação decorrente da estimulação dos quimiorrecetores (papilas gustativas) localizados na cavidade oral. O odor dos componentes voláteis dos alimentos afeta os recetores olfativos localizados na cavidade nasal. O paladar engloba a percepção combinada do sabor e odor nos recetores olfativos nas cavidades orais, nasais e laríngeas. A palatabilidade é a percepção obtida enquanto a comida é consumida e inclui o sabor e a percepção dos animais da aparência, temperatura, tamanho, textura, consistência e talvez experiências anteriores. Pode definir-se palatabilidade como as "propriedades físicas e químicas da alimentação que estão associadas com a promoção ou supressão do comportamento alimentar durante o período de pré-ingestão ou pós-ingestão imediata" (48).

Os testes de preferência ou palatabilidade surgem assim para determinar a aceitação ou preferência de um alimento ou, tal como no caso presente, de um aroma.

A aceitação pode ser definida como o consumo de uma quantidade adequada de calorias num determinado alimento para sustentar o peso e desempenho sem considerar o seu sabor e odor. A preferência é a opção de um item sobre outro e infere que algo está a ser comparado. O aroma é a soma das sugestões olfativas do alimento e meio ambiente e, no cão e gato, é acentuado pelo órgão vomeronasal (órgão de Jacobson), que é uma adaptação anatômica do órgão olfativo sensorial que amplifica o aroma (48).

O aroma pode ser influenciado pela temperatura e humidade. O comportamento do animal face ao aroma é a resposta de "primeira aproximação". Esta é a "comida" à qual ele se aproxima primeiro nas condições de um determinado protocolo.

Por vezes, alguns animais recusam ingerir determinados alimentos por lhes serem estranhos ou constituírem novidade para eles (neofobia). Este comportamento é mais comum nos gatos, mas acontece também nos cães e pode afetar os resultados dos protocolos de palatabilidade (48).

Qualquer cão ou gato, de tamanho pequeno ou grande, de raça comum ou rara, pode ser usado para testar a palatabilidade. Até os animais mais ávidos no mundo canino, como os Labradores, se tiverem a capacidade de discriminar sabores, podem ser eficazes em testes de palatabilidade. A variabilidade entre raças de gatos não é tão grande como entre raças de cães, embora existam diferenças em tamanhos e outras características fisiológicas, como a forma do focinho. Há, porém, uma grande diferença entre raças de cães desde as "raças brinquedo" até aos "cães de trabalho".

Não há evidências que sugiram que uma raça tenha mais capacidade de discernir paladares diferentes do que outra (49).

O objetivo para qualquer projeto é que a amostra selecionada para o estudo seja representativa da população como um todo, e que as conclusões tiradas possam ser aplicadas uniformemente em todos os gatos ou cães quando o produto é introduzido no mercado. Ao usar-se animais de canil estamos apenas a considerar os dados de ingestão do produto, já em ambiente doméstico podem considerar-se outros comportamentos (visuais, posturais e atividade) conjuntamente avaliados pelos proprietários do animal de estimação (49).

1.7 Estudo da estabilidade

A estabilidade é a capacidade da forma galénica para conservar, ao longo de todo o seu período de armazenamento e utilização, as mesmas características e propriedades que possuía no momento do seu fabrico (50, 51). A instabilidade pode levar a alterações na aparência física, diminuir a concentração da s.a. e produzir compostos tóxicos devidos à decomposição do fármaco (50).

Os estudos de estabilidade têm como intuito principal determinar o prazo de validade dos medicamentos, ou seja, o período de tempo durante o qual se mantêm as suas características químicas, físicas, microbiológicas, galénicas, terapêuticas e toxicológicas dentro de limites aceitáveis e bem definidos (52).

O conhecimento da estabilidade dos medicamentos é importante porque garante a segurança do doente, sendo também uma obrigação legal, bem como uma necessidade económica. E, se é verdade que todos os medicamentos se alteram, também é verdade que vários fatores contribuem para isso: as características das matérias-primas, o processo de fabrico, o tipo de forma farmacêutica, a embalagem e as condições ambientais e de conservação (52).

As normas internacionais que orientam o estudo da estabilidade estão reunidas na *guideline* Q1A(R2) da *International Conference on Harmonisation (ICH)*, *Stability Testing of New Drug Substances and Products* (53). Segundo esta *guideline*, **estudos de estabilidade** são estudos em condições de longo prazo, aceleradas e intermédias, realizados de acordo com um protocolo de estudo com o intuito de estabelecer ou confirmar o prazo de validade de um medicamento. **Estudos de longo prazo** são realizados nas condições recomendadas de armazenamento, para efeitos de determinação ou confirmação do prazo de validade de um medicamento. **Testes Acelerados** são estudos de estabilidade destinados a promover a degradação química ou física de uma preparação, usando condições de armazenamento drásticas. Os dados obtidos a partir desses estudos, somados aos dados dos testes de estabilidade obtidos em tempo real (longo prazo), podem ser usados para avaliar os efeitos de pequenas variações nas condições de armazenamento (como as que podem ocorrer durante o transporte). Os resultados dos testes acelerados nem sempre são indicativos de mudanças físicas.

Zonas Climáticas, são as quatro zonas do mundo que são distinguidas pelas suas condições climáticas predominantes. Zona I “Moderada”, zona II “Subtropical”, zona III “Quente e seca” e zona IV “Tropical”. Uma parcela substancial do mercado farmacêutico está incluída nas zonas climáticas I e II (53, 54).

Pontos de análise são momentos pré-definidos no protocolo de estabilidade, nos quais o medicamento deve ser analisado de forma a documentar o seu perfil de estabilidade (53).

Foram escolhidas as **condições de armazenamento** referidas na Tabela 5 para realizar os Estudos de Estabilidade do presente trabalho, com base nas guidelines para produto acabado (53), uma vez que não existem diretrizes para manipulados.

Tabela 5 – Condições de armazenamento dos 2 lotes cuja estabilidade será testada.

Ensaio	Condições de armazenamento	Período de ensaio
Longo prazo	25°C ± 2 °C	1 mês
Acelerados	40°C ± 2 °C	1 mês

Os estudos de estabilidade deverão ser conduzidos por um período correspondente ao tempo que é expectável que o medicamento fique em *stock* ou em uso. No caso do presente trabalho, como se trata de um manipulado, far-se-ão testes de estabilidade durante **um mês**. Serão testadas 3 amostras, quer à temperatura ambiente, 25°C, quer em condições aceleradas, à temperatura de 40°C.

2. Objetivos

Devido à escassez de oferta de MUV no mercado português, e ao facto de que os que existem não cobrem todas as necessidades do dia-a-dia das clínicas veterinárias, resolveu-se investir no desenvolvimento de veículo(s) manipulado(s) genérico(s) que fosse(m) compatível(eis) com fármacos usados comumente na terapêutica médico-veterinária, no âmbito da clínica de animais de companhia, em particular de cães e gatos. Para tal foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- Levantamento das especialidades farmacêuticas que estão em falta no mercado português dos MUV,
- Desenvolvimento de suspensões adequadas para administração oral a animais de companhia (cão, gato),
- Estudo da preferência dos gatos e cães por diferentes aromas (a ser incluídos nas suspensões),
- Avaliação da estabilidade das suspensões finais.

A aprendizagem de procedimentos e técnicas laboratoriais e o contacto com o universo dos medicamentos manipulados utilizados na Medicina Veterinária, assim como a formação profissional e pessoal obtida no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica foram ainda objetivos secundários conseguidos durante a realização deste trabalho. Finalmente, os ensinamentos sobre o tratamento e discussão dos resultados experimentais constituem uma etapa fundamental num processo de aprendizagem científica.

3. Materiais e Métodos

3.1 Materiais

3.1.1 Matérias-primas

Avicel RC®-591

Fornecedor: FMC Corporation, Health and Nutrition, 1735 Market St., Philadelphia, PA 19103, EUA.

Composição: Celulose Microcristalina /Carboximetilcelulose Sódica NF, Ph. Eur. JPE.

Lote: DN15828596.

Prazo de validade: 08/08/2018.

Embalagem: 2 Kg.

Aspeto: pó branco, de elevada ténuidade e muito higroscópico.

Solubilidade: insolúvel em álcool, dispersível em água.

Goma Xantana

Fornecedor: Acofarma Llobregat, 20, Lab. Nº 3227, Terrassa, Barcelona.

Lote: 151627-N-1.

Prazo de validade: 28/08/2018.

Embalagem: 250 g.

Definição: Polióside aniónico de peso molecular elevado (10^6) produzido pela fermentação de glúcidos pela bactéria *Xanthomonas campestris*. É constituído por uma cadeia principal de unidades de D-glucose unidas por pontes glucosídicas β (1 \rightarrow 4) (35).

Aspeto: pó branco ou branco-amarelado, de escoamento fluido, inodoro (24).

Solubilidade: solúvel na água originando uma solução fortemente viscosa, praticamente insolúvel nos solventes orgânicos (35).

Tween® 80

Fornecedor: Acofarma® Llobregat, 20, Lab. Nº 3227, Terrassa, Barcelona.

Lote: 151028-P-1.

Prazo de validade: 28/11/2016.

Embalagem: 1 Kg.

Definição: mistura de ésteres parciais de ácidos gordos, principalmente ácido oleico, sorbitol e respectivos anidridos, etoxilados por cerca de 20 moles de óxido de etileno por cada mole de sorbitol e anidridos do sorbitol.

Aspeto: líquido oleoso amarelo-acastanhado, límpido ou ligeiramente opalescente.

Solubilidade: miscível com a água, o etanol anidro, o acetato de etilo e o metanol, praticamente insolúvel nos óleos gordos e na parafina líquida (35).

Frutose

Fornecedor: Acofarma® Llobregat, 20, Lab. Nº 3227, Terrassa, Barcelona.

Lote: 150440-N-1.

Prazo de validade: 01/01/2017.

Embalagem: 250 g.

Aspeto: pó cristalino branco ou quase branco de sabor muito doce.

Solubilidade: muito solúvel em água, solúvel em etanol a 96% (35).

Metilparabeno sódico

Fornecedor: Acofarma® Llobregat, 20, Lab. Nº 3227, Terrassa, Barcelona.

Lote: 150984-G-2.

Prazo de validade: 01/10/2016.

Embalagem: 25 g.

Definição: *Para*-Hidroxibenzoato de Metilo (Metilparabeno) sódico. E-219.

Aspeto: pó cristalino branco ou quase branco, higroscópico, quase inodoro e tem um leve paladar a queimado (24).

Solubilidade: facilmente solúvel em água, bastante solúvel no etanol a 96% e praticamente insolúvel no cloreto de metileno (37).

Propilparabeno sódico

Fornecedor: Acofarma® Llobregat, 20, Lab. Nº 3227, Terrassa, Barcelona.

Lote: 151734-I-1.

Prazo de validade: 08/09/2017.

Embalagem: 50 g.

Definição: *Para*-Hidroxibenzoato de Propilo (Propilparabeno) sódico. E-217.

Aspeto: pó cristalino branco ou quase branco, quase inodoro e sem sabor (24).

Solubilidade: solúvel na água, bastante solúvel no etanol a 96%, praticamente insolúvel no cloreto de metileno (37, 55).

Aroma de carne

Fornecedor: Lucta S.A., Barcelona, Espanha.

Composição: diacetilo, ácido láctico, propilenoglicol.

Lote: S 960796.

Prazo de validade: 3/02/2017.

Aspeto: líquido acastanhado; Odor: a mistura de carnes.

Aroma de banana

Fornecedor: Lucta S.A., Barcelona, Espanha.

Composição: d- limoneno, acetato de isopentilo.

Lote: S 960800.

Prazo de validade: 3/08/2017.

Aspeto: líquido amarelo; Odor: frutado.

Aroma de pescado

Fornecedor: Aromac, Setúbal, Portugal.

Composição: mistura de aromatizantes para alimentação animal*.

Lote: 605L0702.

Prazo de validade: 5/02/2017.

Aspeto: líquido amarelo esverdeado; Odor: característico.

Aroma de fígado

Fornecedor: Aromac, Setúbal, Portugal.

Composição: mistura de aromatizantes para alimentação animal*.

Lote: 605L0802.

Prazo de validade: 5/02/2017.

Aspeto: líquido amarelo pálido; Odor: cárneo.

Aroma de frutos vermelhos

Fornecedor: Aromac, Setúbal, Portugal.

Composição: mistura de aromatizantes*¹.

Lote: 605L0902.

Prazo de validade: 5/02/2017.

Aspeto: líquido amarelo pálido; Odor: frutado.

Ponceau 4R Conacert

Fornecedor: PROQUIMAC, Food&Pharma, Barcelona (Espanha).

Lote: 153757597.

Prazo de validade: 20/07/2020.

Embalagem: 1 Kg.

Códigos do corante: CI 16255, FOOD RED 7, E-124.

Aspeto: pó vermelho.

Solubilidade: solúvel em água (56).

Metronidazol

Fornecedor: Acofarma®, Llobregat, 20, Lab. Nº 3227, Terrassa, Barcelona.

Lote: 141454-P-1.

* A Aromac não disponibilizou a composição qualitativa dos seus aromas, mesmo após solicitação desta informação.

Prazo de validade: 01/03/2018.

Embalagem: 1 Kg.

Aspeto: pó cristalino, branco ou amarelado.

Solubilidade: pouco solúvel na água, na acetona, no álcool e no cloreto de metileno (35).

3.1.2 Reagentes

Para os ensaios de HPLC foi utilizado metanol (HiPerSolv CHROMANORM da VWR International, França) e água ultrapura (obtida no laboratório pelo Sistema Direct-Q®, Millipore® SAS, França).

3.1.3 Aparelhos utilizados

Aagitador de hélice (Heidolph® Instruments GmbH & Co. KG, Alemanha; modelo: RZR 2041).

Aagitador magnético (Stuart Scientific, Reino Unido, modelo: SM26).

Aagitador magnético (Cimarec®, Barnstead International, USA, modelo SP131320-33).

Aparelho de HPLC (Thermo Scientific, Dionex UltiMate 3000, Rapid Separation LC (RSLC) systems, Alemanha; *software* Chromeleon 6.80, Dionex, EUA).

Balança digital (Ohaus, Explorer® Pro, EUA, modelo: EP612).

Balança analítica (Radwag Wagi Elektroniczne, Polónia; modelo: AS 220.R2).

Câmara climática (Mettler, Alemanha, modelo: UFB 400).

Câmara climática (Astell Scientific, Reino Unido, modelo: JBH800).

Espectrofotómetro UV-VIS (Jasco, Japão, modelo V-650, *software* Spectra Manager versão 2, Jasco, Japão).

Potenciómetro (Crisson Instruments, S.A., Espanha; modelo Basic20).

Viscosímetro Thermo Haake VT 550 (Gebruder Haake, Alemanha, modelo: VT 550).
Com sonda SV DIN 222-0505 e copo 807-0792, *software* Rheowin 3 (Thermo Fisher Scientific, Alemanha).

3.2 Métodos

3.2.1 Inquérito realizado aos Médicos Veterinários

Para cumprir o primeiro objetivo desta tese, e para compreender quais os medicamentos de uso veterinário (MUV) que esses profissionais consideram estar em falta no mercado português, foram realizadas algumas entrevistas presenciais a médicos veterinários de animais de companhia, a exercer a sua atividade em hospitais veterinários. Ficou patente a carência de alguns fármacos, de formulações adaptadas a todas as espécies, mais palatáveis e de maior duração de ação, com vias de administração mais cómodas.

Após estes contactos, considerou-se que para compreender melhor as dificuldades na prescrição/tratamento médico-veterinário seria importante auscultar a opinião de um maior número de veterinários. Foi então elaborando um inquérito de resposta rápida, anónimo, com 5 perguntas:

- Faixa etária.
- Região onde exerce atividade.
- Situação do dia-a-dia em que a dificuldade de prescrição médico-veterinária se faça notar.
- Para cada situação identificada na resposta anterior indique se conseguiu cumprir o objetivo terapêutico e como o fez.
- Exerce predominantemente clínica de Animais de Companhia e/ou Espécies Pecuárias.

Este questionário foi realizado com recurso a um *software* livre (Formulários do Google) que foi disponibilizado *on-line* a grupos de redes sociais frequentadas por médicos veterinários. Foram obtidas 63 respostas de profissionais que exercem clínica de Animais de Companhia e/ou de Espécies Pecuárias.

3.2.2 Desenvolvimento do veículo

A partir da análise das entrevistas e questionários realizados foi decidido desenvolver uma suspensão oral que permitisse disponibilizar de forma cómoda e palatável medicamentos a cães e gatos. Para desenvolver essa suspensão oral foi necessário determinar a sua viscosidade a concentração ideal de Avicel® RC-591, goma xantana, conservantes, frutose, aromas, da s.a. e do corante.

3.2.2.1 Determinação da viscosidade

Reologia é o ramo da física que estuda as propriedades de escoamento e deformação da matéria. Para que um corpo flua, deve-se realizar sobre ele uma força chamada, em Reologia de tensão de corte (T). Com ela está relacionado um gradiente de velocidade dependente da resistência interna da substância, ou seja, da viscosidade (η), chamado de velocidade de deformação ($\dot{\gamma}$) (57).

A viscosidade é um dos parâmetros mais importantes em Reologia. A sua expressão matemática foi formulada por Newton, conforme a equação (58):

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

onde η é a viscosidade (Pa.s), T é a tensão de corte (Pa) e $\dot{\gamma}$ é a velocidade de deformação em corte (s^{-1}).

Substâncias ou sistemas Newtonianos: são aquelas que cumprem a relação formulada por Newton, ou seja, nestas substâncias a velocidade de deformação é diretamente proporcional à tensão de corte. Como consequência, a viscosidade apresenta sempre o mesmo valor a uma determinada temperatura, independentemente da tensão de corte ou da velocidade de deformação e pode ser considerada uma constante do material (57).

Substâncias ou sistemas não-Newtonianos: os materiais que não apresentam um comportamento newtoniano, como os líquidos complexos e as preparações semissólidas, apresentam um comportamento caracterizado por variações da viscosidade em função da velocidade de corte aplicada (57).

As suspensões, soluções coloidais, emulsões, pomadas e geles, de entre outras formas farmacêuticas, são sistemas não-Newtonianos e podem apresentar os seguintes comportamentos reológicos (57):

- Comportamento pseudoplástico/reofluidificante – A viscosidade de um sistema pseudoplástico diminui com o crescimento da velocidade de corte, com a qual o sistema se torna mais fluido.
- Comportamento dilatante/reoespessante – ocorre nos sistemas em que há aumento da viscosidade decorrente do aumento da velocidade de corte. É um fenómeno incomum, oposto ao comportamento pseudoplástico, e aparece principalmente em suspensões com uma grande percentagem de sólidos.

Tixotropia: a tixotropia pode ser definida como uma diminuição da viscosidade do fluido com o tempo de deformação, ocorrendo de forma reversível. A tixotropia é observada em sistemas pseudoplásticos. A viscosidade inicial do fluido é retomada após algum tempo de interrupção da deformação (57). A representação gráfica quantitativa deste fenómeno pode ser visualizada pela área de histerese entre a curva ascendente e curva descendente, da velocidade de corte em função da tensão de corte.

Para se avaliar o comportamento reológico das suspensões preliminares e da suspensão final foi utilizado um viscosímetro rotacional de cilindros concêntricos (*Thermo Haake* VT 550, Alemanha). A viscosidade é medida pela velocidade angular de um cilindro que gira enquanto o outro contém a amostra e permanece estático. O cilindro giratório é uma sonda SV DIN 222-0505. Os ensaios foram realizados a 20°C e na gama de velocidades de corte de 0,1 a 1000 s⁻¹, inicialmente de forma crescente e posteriormente em ordem decrescente, com 60 segundos de intervalo entre as medições. A temperatura foi controlada num banho termostatzado ($\pm 0,1^\circ\text{C}$) (*Huber* CC1, Reino Unido). Para cada ensaio, que demorou aproximadamente 70 min, transferiu-se 10 mL da amostra a analisar para um copo (cilindro estático) e deu-se início à determinação da viscosidade recorrendo ao *software* Rheowin 3 (*Thermo Fisher Scientific*, Alemanha). Os ensaios foram realizados em triplicado.

Os resultados do estudo das propriedades de escoamento das diferentes amostras foram representadas graficamente no programa Excel (*Microsoft office*TM, 2013) e os dados foram ajustados ao modelo reológico de Herschel-Bulkley (59):

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n$$

em que τ é a tensão de corte, τ_0 é a tensão de cedência, K é o índice de consistência, $\dot{\gamma}$ é a velocidade de deformação e n é o índice de escoamento.

Os parâmetros K , n e τ_0 foram ajustados ao modelo utilizando o suplemento solver do Excel. O coeficiente de determinação, R^2 (o valor mais próximo de 1), e a soma dos quadrados dos desvios, SQD (a mais pequena possível), foram utilizados para avaliar o ajuste do modelo. Quando $n = 1$ o modelo traduz a lei de Newton e estamos perante um fluido newtoniano em que a viscosidade é independente da velocidade de deformação, quando $n < 1$ a viscosidade diminui com a velocidade de deformação o que indica a presença de um fluido reofluidificante (ou pseudoplástico), e quando $n > 1$ a viscosidade aumenta com a velocidade de deformação o que caracteriza um fluido reoespessante (ou dilatante).

3.2.2.2 Determinação da concentração de Avicel® RC-591

Para determinar a concentração ideal do agente suspensor prepararam-se suspensões de Avicel® RC-591: 1%, 1,5%, 2%, 2,5% e 3%.

Foi feita a agitação das várias suspensões com um agitador de hélice (RZR 2041) a 700 rpm durante 1h e com um agitador magnético (SM26) utilizando a mesma velocidade e tempo de agitação.

A viscosidade foi medida em todas as suspensões aos dias: 0, 1, 3, 7 e 14 com o auxílio de um viscosímetro, que permite a determinação deste parâmetro reológico nas condições descritas em 3.2.2.1.

3.2.2.3 Determinação da concentração de goma xantana

Para evitar a floculação da suspensão foi utilizada a goma xantana (GX). Para determinar qual a melhor concentração de GX a utilizar, seguiram-se as recomendações do fabricante do ARC, que propõe a associação de um coloide protetor ao agente suspensor na proporção de 15-20% do peso do agente suspensor (33). Mantendo fixa a concentração do agente suspensor ARC a 2%, foram testadas 3 concentrações diferentes de GX:

- 0,2% (corresponde a 10% da quantidade de ARC m/m)
- 0,4% (corresponde a 20% da quantidade de ARC m/m)
- 0,6% (corresponde a 30% da quantidade de ARC m/m)

O valor de pH foi controlado recorrendo a papel indicador universal, antes e depois da adição de GX às suspensões. A viscosidade de todas as suspensões foi avaliada aos dias: 0, 1, 3, 7 e 14 com o auxílio de um viscosímetro, da mesma forma descrita anteriormente.

3.2.2.4 Determinação da concentração dos conservantes (e agente molhante)

Partindo de uma preparação base com 2% de ARC e 0,4% de GX, foram realizados ensaios com o intuito de determinar a melhor concentração de agentes conservantes (metil e propil parabenos) a incluir na suspensão desejada. O veículo é sempre preparado da seguinte forma:

1. Água purificada (iniciar agitação por agitador a hélice, 700 rpm),
2. Adicionar conservantes,
3. Adicionar ARC 2%,
4. Adicionar GX 0,4% (agitar 15 min),
5. Adicionar Tween[®] 80 0,005%,
6. Conforme os casos, adicionar outras matérias-primas da fórmula (edulcorante, aroma, corante, s.a., etc.),
7. Agitar 45min (total de agitação 1h) mantendo as condições de agitação.

Obtiveram-se suspensões com aspeto mais homogêneo adicionando lentamente o ARC, sob a forma de “chuveiro” à água. Este procedimento conduz ao intumescimento e à hidratação sucessiva das camadas estruturais da metilcelulose, evitando a formação de agregados de partículas.

A percentagem de agente molhante (Tween[®] 80, 0,005%) foi mantida constante nas diferentes suspensões testadas, considerando o disposto no Formulário Galénico Português (60) e na experiência já adquirida no laboratório no âmbito de outros trabalhos de mestrado (61). Contudo, por razões logísticas que se prendem com a disponibilidade de matéria-prima, no presente trabalho foi utilizado como agente molhante o Tween[®] 80 e não o Tween[®] 20.

Tabela 6 – Conservantes testados (e respetivas concentrações).

Suspensão nº	1	2	3	4
Metilparabeno sódico	0,5%	0,07%	-	0,015%
Propilparabeno sódico	0,5%	0,03%	-	0,01%
ARC	2%	2%	2%	2%
GX	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%
Tween® 80	0,005%	0,005%	0,005%	0,005%

Quanto aos agentes conservantes, testaram-se diferentes percentagens de metil e propil parabeno sódico. A suspensão nº3, também designada por 3ª fórmula final (3ª FF), não possui conservantes (Tabela 6) para permitir verificar se a presença destes compostos interfere com o sabor e com a contaminação biológica (detetável macroscopicamente) da suspensão ao longo do tempo.

3.2.2.5 Determinação da concentração da frutose

Para determinar qual a melhor concentração de edulcorante na fórmula final fizeram-se várias suspensões com frutose, considerando o intervalo utilizado com mais frequência nas especialidades disponíveis no mercado: 9, 10 e 11% (Tabela 7).

Tabela 7 – Concentrações de frutose testadas.

Suspensão nº	5	6	7	8
Metilparabeno sódico	0,015%	-	0,015%	0,015%
Propilparabeno sódico	0,01%	-	0,01%	0,01%
Benzoato de sódio	-	0,02%	-	-
ARC	2%	2%	2%	2%
GX	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%
Tween® 80	0,005%	0,005%	0,005%	0,005%
Frutose	9%	9%	10%	11%

Na 6ª FF os parabenos foram substituídos pelo conservante benzoato de sódio a 0,02%. Esta substituição permitiu verificar se o agente conservante modificava o paladar da suspensão, na presença da mesma quantidade edulcorante (9%). Nesta formulação foi necessário adicionar ácido cítrico (solução a 25%) até obter pH = 4, uma vez que o benzoato de sódio atua melhor como conservante num intervalo de pH entre 2 - 5 (24). O pH de todas as suspensões foi avaliado com o auxílio de um potenciômetro (Crison Instruments, S.A., Basic20).

3.2.2.6 Determinação da concentração dos aromas

Em Portugal revelou-se difícil encontrar fornecedores de aromas para a indústria farmacêutica, principalmente adequados a uso veterinário. A grande maioria dos aromatizantes comercializados no nosso país destinam-se à área alimentar e ao consumo humano. Acabou por se conseguir entrar em contato com duas empresas, a **Lucta** (empresa espanhola mas com representação comercial em Portugal) e a **Aromac** (empresa portuguesa, apesar da produção de aromas ser feita em Espanha) que, gentilmente, disponibilizaram amostras de diferentes aromas, todos utilizados na indústria alimentar animal.

- Lucta - Aromas a banana (sem PG), peixe (com PG), tutti-fruti (sem PG), atum (com PG), carne (com PG) e citrinos (com PG).
- Aromac - Aromas a baunilha (c/ PG), pescado azul (s/ PG), fígado (s/PG), lactantes (c/ PG), laranja (s/ PG), limão (s/ PG), banana (s/ PG), frutas vermelhas (c/ PG).

Todos os aromas acima referidos estão de acordo com o Regulamento (CE) Nº 1831/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho, relativo aos aditivos destinados à alimentação animal (42).

Devido à toxicidade provocada pelo propilenoglicol (30), foram excluídos dos testes de preferência em gatos, a realizar no âmbito deste trabalho, todos os aromas com este solvente na sua composição. Restaram, portanto, as seguintes opções: tutti-frutti, banana, limão, laranja, fígado e peixe.

No sentido de tornar a suspensão proposta mais palatável, foram testados vários aromas, a diferentes concentrações: 1, 1,5 e 2%. As provas sensoriais iniciais foram realizadas de forma informal, em humanos, pela análise do odor e paladar de cada suspensão, tendo sido selecionadas as fórmulas presentes na Tabela 8.

Para testar os aromas frutados (frutos vermelhos e banana) usou-se como base a 8ªFF (11% de frutose). Para os restantes aromas (carne, fígado e pescado) usou-se como base a 4ªFF (sem frutose). O método de preparação das suspensões é o indicado em 3.2.2.4.

Tabela 8 – Alguns aromas testados (e respetivas concentrações).

FF Base	4	4	8	4	8
Metilparabeno sódico	0,015%	0,015%	0,015%	0,015%	0,015%
Propilparabeno sódico	0,01%	0,01%	0,01%	0,01%	0,01%
Avicel® RC-591	2%	2%	2%	2%	2%
GX	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%
Tween® 80	0,005%	0,005%	0,005%	0,005%	0,005%
Frutose	-	-	11%	-	11%
Aroma	carne 1%	fígado 1,5%	frutos vermelhos 1%	pescado 2%	banana 1,5%

3.2.2.7 Adição da substância ativa e do corante à suspensão

Considerando as dificuldades de prescrição identificadas pelos médicos veterinários de animais de companhia nos inquéritos realizados (ver métodos 3.2.1 e resultados 3.3) foi selecionado o metronidazol como a s.a. para adicionar à suspensão desenvolvida. A quantidade de metronidazol por mililitro de suspensão (200 mg/mL) foi selecionada considerando as doses e o peso médio dos cães e gatos, segundo a Tabela 2 (introdução, 1.5.2.1).

Assim, a título de exemplo, a um cão de 20 Kg que necessitasse de 20 mg/Kg de metronidazol, por via oral (PO), cada 12h (bid), seria necessário administrar, com o auxílio de uma seringa, 2 ml da suspensão (que contém 400 mg de metronidazol) cada 12h. Para um gato com 4 kg que necessitasse de 25 mg/Kg de metronidazol, PO, bid, seria necessário administrar 0,5 ml da suspensão (que contém 100 mg de metronidazol) cada 12h. Desta forma evitava-se ter que seccionar os comprimidos

existentes no mercado (de 250 e 500mg de metronidazol), garantindo a correção da dose com uma suspensão palatável, de fácil administração oral.

Assim, adicionou-se 200 mg de metronidazol por mL de suspensão de duas formas distintas: 1) previamente pulverizado em almofariz e 2) sem pulverizar, para se avaliar se causaria alguma diferença no aspeto final da suspensão.

Inicialmente foi testada a fórmula com o aroma de carne, associada a várias concentrações de corante vermelho (Corante Ponceau 4R), até se conseguir uma tonalidade semelhante à da carne crua (suspensão nº 9).

A 9ª FF foi depois modificada (FF 9') para tentar ocultar o paladar amargo do metronidazol. Foi então adicionado um edulcorante (frutose 11%) e a concentração de aroma foi aumentada para 1,5%. Na 10ª e 11ª FF selecionou-se o aroma a laranja e aumentou-se a concentração de frutose para 15 e 25%, respetivamente (Tabela 9).

Tabela 9 – Corante, fármaco, edulcorante e aromas testados.

FF Base	4	9	9'	10	11
Metilparabeno sódico	0,015%	0,015%	0,015%	0,015%	0,015%
Propilparabeno sódico	0,01%	0,01%	0,01%	0,01%	0,01%
ARC	2%	2%	2%	2%	2%
GX	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%
Tween® 80	0,005%	0,005%	0,005%	0,005%	0,005%
Frutose	-	-	11%	15%	25%
Corante Ponceau 4R	-	0,0023%	0,0023%	0,0023%	0,0023%
Metronidazol	200 mg/mL	200 mg/mL	200 mg/mL	200 mg/mL	200 mg/mL
Aroma	-	carne 1%	carne 1,5%	laranja 2%	laranja 2%

3.2.3 Testes de preferência

Após se ter alcançado uma suspensão com características adequadas para administração por via oral a cães e gatos, propusemo-nos a escolher o aromatizante que mais agradasse a essas espécies, e que pudesse tornar a forma farmacêutica mais palatável. Para cumprir esse objetivo, foi elaborado um ensaio que permitisse compreender as preferências dos animais por determinado aroma, sabendo que esse é um parâmetro que mantém alguma subjetividade, sendo difícil de traduzir em métodos de análise quantificáveis (48).



Figura 12 – Teste de preferência “de duas taças” em cão.

Foi então desenhado um teste de preferência adaptado do teste “de duas taças” (Figura 12), que permite a cada animal escolher livremente entre as opções que lhe são apresentadas (49). No ensaio realizado foram disponibilizados a cada animal, em simultâneo, num prato de plástico branco descartável, 3 suspensões diferentes. Todas as suspensões tiveram como base as fórmulas nº 4 e 8 desenvolvidas anteriormente, sem a adição de corantes ou fármacos. Os aromas adicionados a cada uma das suspensões foram baseados nos comportamentos alimentares das espécies em causa. Assim, para os testes com cães foram disponibilizados a cada animal 5, 10 ou 15 mL da suspensão (consoante o seu peso) (ver 3.2.2.6):

- nº 4 aromatizada com carne (1%);
- nº 4 aromatizada com fígado (1,5%) e
- nº 8 aromatizada com frutos vermelhos (1%).

Para os testes com gatos foram disponibilizados a cada animal 5 mL da suspensão:

- nº 4 aromatizada com pescado (2%);
- nº 4 aromatizada com fígado (1,5%) e
- nº 8 aromatizada com banana (1%).

A amostra selecionada compreendeu cães e gatos com tutor, que acederam de forma expressa que o(s) animal(ais) participasse(m) no estudo de forma anónima, assinando o termo de consentimento informado (em Anexo). Este estudo teve o parecer favorável do Organismo Responsável pelo Bem-Estar Animal (ORBEA) do ICBAS-UP (em Anexo). Participaram 30 cães e 33 gatos saudáveis com um temperamento cooperante, com mais de 6 meses de idade, de qualquer raça e género.

Pediu-se a cada tutor que levasse para casa 3 suspensões e que filmasse a resposta do seu animal de estimação, durante cerca de 5 minutos, quando colocado na presença de 3 pratos brancos idênticos, cada um com 5 (no caso dos gatos) ou 10 mL (no caso dos cães) das suspensões em teste. Sempre que um mesmo tutor tivesse vários animais, o teste deveria ser realizado individualmente, com pratos e suspensões novas. Foi entregue a cada tutor um protocolo do teste (em Anexo).

A análise dos dados compreendeu a visualização dos vídeos e o registo dos seguintes dados:

- 1ª Aproximação: de que prato o animal se aproxima primeiro (cães e gatos).
- Preferência: prato pelo qual o animal demonstra mais interesse, cheirando durante mais tempo, ou ao qual volta depois de ter explorado outros (apenas gatos).
- Ingestão: prato cuja suspensão o animal ingeriu de forma parcial (cães e gatos) ou total (apenas cães).
- Indiferença: prato que o animal decide não explorar (cães e gatos).
- Desagrado: prato que o animal explora manifestando desagrado, como comportamento de fuga ou hipersialia (cães e gatos).

Sempre que o tutor não tivesse disponibilidade para filmar as respostas do seu animal na presença das suspensões em teste, foi pedido que permitisse a presença do investigador para efetuar o registo das respostas, ou que o fizesse ele próprio, de acordo com as indicações dadas.

3.2.4 Ensaios de estabilidade

De forma a verificar se a suspensão desenvolvida mantinha as suas características ao longo de 30 dias, foram realizados ensaios de medição do pH, viscosidade, doseamento e avaliação das características organoléticas.

Ensaios de estabilidade (t₀)

- 1) Fazer a quantidade necessária da suspensão final (frutose 11%, aroma de carne 1%, metronidazol 200 mg/mL e corante Ponceau 4R 0,0023%).
Dividir a suspensão em 3 frascos (+/- 200 mL para cada) de vidro âmbar, devidamente rolhados e etiquetados (frasco A, B e C).
- 2) Medir o pH das suspensões (potenciómetro Crison Instruments, S.A., Espanha).
- 3) Determinar a viscosidade (viscosímetro Thermo Haake VT 550, Alemanha).
- 4) Doseamento do metronidazol por HPLC (Dionex UltiMate 3000, Alemanha).

A suspensão foi diluída 1:10000 em água. Recolher alíquotas das 3 amostras (A, B e C) que estão em cada câmara e injetar 1 vial para cada (6 viais). Fazem-se 3 injeções de cada vial.

- 5) Avaliação das características organoléticas.
- 6) Guardar os frascos na respetiva câmara climática a → 3 frascos a 25°C e 3 frascos a 40°C (Figura 13).



Figura 13 - Suspensões finais na câmara climática a 40°C.

Repetir estes procedimentos (exceto o ponto 1) a t7, t14 e t30.

3.2.4.1 Identificação e doseamento do metronidazol

3.2.4.1.1 Identificação por espectrofotometria UV/VIS

A espectrofotometria UV é uma técnica quantitativa usada para medir as propriedades de absorção, reflexão ou transmissão da luz UV de uma amostra, em função do comprimento de onda. O espectro resultante é característico de uma dada substância.

Foi determinado o espectro UV do metronidazol utilizando um espectrofotómetro de duplo feixe para se saber a que comprimento de onda absorve esta s.a.. Para a obtenção do mesmo, mediu-se a absorção da amostra contra a absorção da fase móvel (água/metanol 70:30), ambas em cuvetes de quartzo. As amostras foram analisadas com recurso ao espectrofotómetro UV-VIS (Jasco, Japão, V-650, *software* Spectra Manager, versão 2, Jasco, Japão) com as condições de leitura de 100 nm/minuto e dentro do intervalo de comprimento de onda 200-600 nm.

3.2.4.1.2 Desenvolvimento do método de doseamento por HPLC

O metronidazol na suspensão final foi doseado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), também chamada de *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), em fase reversa, utilizando um aparelho Ultimate 3000 (Dionex, Alemanha). Este aparelho é composto por uma bomba quaternária, um desgaseificador, um amostrador automático, um compartimento da coluna termostaticado, e um detetor de matriz de díodos. O *software* utilizado foi o Chromeleon, versão 6.80 (Dionex, EUA).

A HPLC é uma técnica usada para separar, identificar e quantificar os componentes de uma amostra líquida. A separação ocorre devido à interação seletiva entre moléculas da amostra e 2 fases – a móvel e a estacionária.

Inicialmente testaram-se como eluentes o fosfato monopotássico (KH_2PO_4) e o metanol em várias proporções diferentes (tal como sugerido no ensaio de substâncias aparentadas do metronidazol da Farmacopeia Portuguesa (35)). Mais tarde, as condições foram otimizadas, considerando o t_R (tempo de retenção) e o K' (fator de capacidade), tendo-se definido como fase móvel uma mistura de água e metanol, na proporção 70:30 V/V, como fase estacionária uma coluna ACE[®] 5 C18 (diâmetro das partículas internas: 5 μm ; dimensões: 25 cm x 0,46 cm), o fluxo de 0,7 mL/min, a detecção a 320 nm, com volume de injeção de 10 μL (35) e com um tempo de corrida de 10 minutos.

A suspensão final foi diluída 10000 vezes em água (filtrada com filtro Chrompure PTFE 0,45 μm e injetada no aparelho de HPLC).

3.2.4.1.3 Validação dos parâmetros analíticos da HPLC

Para fazer a validação parcial deste método analítico estudou-se a linearidade, a precisão, a amplitude, a especificidade (62) o fator de capacidade, a assimetria do pico e o número de pratos teóricos (63).

A linearidade de um procedimento analítico é a sua capacidade (dentro de um determinado intervalo de valores) de obter resultados que são diretamente proporcionais à concentração de analito na amostra (62). Para obtenção da linearidade fizeram-se 5 soluções-mãe de metronidazol em água com as concentrações 1,6; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,4 mg/mL. De seguida, procedeu-se a uma diluição de 100 vezes de forma a obter as soluções padrão com as concentrações de 0,016; 0,018; 0,020; 0,022 e 0,024 mg/mL, respetivamente. Todos os padrões foram filtrados

com um filtro de seringa PTFE 0,45 µm para os viais. Foi, então, traçada a curva de calibração.

A precisão de um procedimento analítico expressa o grau de dispersão entre uma série de medições obtidas da mesma amostra, nas mesmas condições. Há 3 níveis de precisão: repetibilidade, precisão intermédia e reprodutibilidade. A precisão é expressa como a variância, desvio padrão ou o coeficiente de variação de uma série de medições (62). Para avaliar a repetibilidade, 5 padrões de metronidazol a diferentes concentrações foram injetados 3 vezes e calculou-se o desvio padrão e o coeficiente de variação.

A amplitude é o intervalo entre a concentração superior e inferior (inclusive) do analito na amostra, para o qual foi demonstrado que o procedimento analítico tem um nível de precisão, sensibilidade e linearidade adequados (62). A amplitude deste procedimento analítico deve ser de 80 a 120% da concentração alvo.

A especificidade é a capacidade para detetar inequivocamente o analito na presença de outros componentes que possam estar presentes (impurezas, produtos de degradação, excipientes, etc.) (62). A especificidade foi avaliada analisando um cromatograma da suspensão final, em que o pico de interesse foi analisado através dos espectros de absorção na zona ascendente, no máximo e zona descendente do pico.

Através da análise dos cromatogramas obtidos a partir das soluções padrão, é possível determinar vários parâmetros, que permitem caracterizar o método utilizado para o doseamento da s.a.. O fator de capacidade (K') é uma medida da localização do pico de interesse tendo em conta o tempo de eluição dos componentes não retidos (63). Este é calculado com base na seguinte equação:

$$k' = \frac{tr - t_0}{t_0}$$

onde tr é o tempo de retenção da substância de interesse e t_0 é o tempo morto da coluna. A Reviewer Guidance “*Validation of Chromatographic Methods*” (63) recomenda que o K' seja maior do que 2.

O valor de t_0 pode ser estimado, calculando em primeiro lugar o seu volume morto - V_m (em mL) e aplicando a expressão $V_m \approx 0,5 \times L \times d_c^2$, em que d_c é o diâmetro interno da coluna (em cm) e L é o comprimento da coluna (em cm) (64). Uma vez calculado o volume morto da coluna é possível convertê-lo no tempo morto da coluna usando a expressão $t_0 = V_m / F$, onde F é o fluxo de eluente, em mililitros por minuto

(mL/min). Para o caso de uma coluna de 25 cm x 4,6 mm e um fluxo de 0,7 mL/min obtém-se:

$$V_m = 0,5 \times 25,0 \times 0,46^2 = 2,6 \text{ mL} \quad \text{e} \quad t_0 = 2,6/0,7 = 3,78 \text{ min.}$$

O número de pratos teóricos (NPT) é uma medida da eficiência da coluna, que consiste no número de picos que podem ser localizados por unidade de tempo da corrida num cromatograma, ou seja, a sua capacidade de separação. Este valor pode ser afetado por diversas variáveis como: a posição do pico, o tamanho das partículas na coluna, o fluxo e a viscosidade da fase móvel, a temperatura da coluna e o peso molecular do analito (63). O cálculo é dado pela seguinte fórmula:

$$NPT = 16 (t_R / b_W)^2$$

onde, t_R é o tempo de retenção e b_W é a largura do pico na base. De acordo com a *Guidance* (63) este valor deve ser superior a 2000.

Foi também avaliada a assimetria dos picos obtidos, que está relacionada com os fenómenos de *fronting* ou *tailling*. Este parâmetro permite avaliar a qualidade da coluna desde que as condições de corrida se mantenham iguais e é aconselhado que seja inferior ou igual a 2 (63). Teórica e idealmente, os picos devem corresponder a uma distribuição de Gauss (simétrica). A assimetria dos picos (A) é calculada segundo a Farmacopeia Portuguesa (35), pela seguinte fórmula:

$$A = \frac{RW5\% + LW5\%}{2 \cdot LW5\%}$$

onde, RW e LW correspondem, respetivamente, à largura a 5% da altura do pico do lado direito e do lado esquerdo (63).

4. Resultados e Discussão

4.1 Inquérito realizado aos Médicos Veterinários

Após ter sido abordado (em 1.2) quais as patologias que mais frequentemente afetam cães e gatos (que representam a grande maioria dos animais de companhia em Portugal), e que exigem um tratamento farmacológico, associado ou não a internamento, é importante analisar que fármacos são mais utilizados, e que formas farmacêuticas estão disponíveis no mercado para responder às necessidades reais dos veterinários e seus animais.

O intuito do presente trabalho foi descobrir algumas lacunas existentes no mercado português de Medicamentos de Uso Veterinário (MUV) e desenvolver um medicamento que seja útil, que constitua uma inovação ao nível tecnológico e que, por estas razões, seja apelativo em termos comerciais.

Inicialmente procurou-se saber junto de especialistas em Medicina Veterinária se, pela sua perceção diária no trabalho, havia falta de armas terapêuticas. Começou-se pelo Hospital Veterinário da Universidade do Porto, no qual o Dr. Jorge Ribeiro, em resumo, expressou o seguinte:

- A existência de poucos quimioterápicos orais disponíveis (e difíceis de manipular quando é necessário adaptar doses);
- Os fármacos para gatos deveriam ser mais palatáveis. Estes animais de companhia são mais difíceis de fazer colaborar no tratamento e gostam, por exemplo, de sabores a carne;
- Há falta de fármacos com ação no sistema urinário (retenção urinária, infeções, etc.), tanto para cães como para gatos;
- Formulações orais para gatos seriam todas interessantes, sobretudo com antibióticos, porque muitas moléculas de antibióticos não estão disponíveis em MUV;
- Omeprazol em doses adequadas a gatos faz muita falta;
- Loções de aplicação tópica em geral;
- Gabapentina, para dor neuropática por compressão, seria muito interessante em sistema transdérmico;

- Os sistemas transdérmicos poderão ser muito úteis, no entanto há que acautelar a absorção errática que pode ocorrer, nomeadamente após cirurgia em que os animais ficam hipotérmicos;
- Injetáveis *depot* são muito importantes pois evitam idas repetidas ao veterinário.

No Hospital Veterinário da Trofa, após reunião com toda a equipa de médicos veterinários, foram apontadas as dificuldades que estes profissionais sentem no tratamento farmacológico dos seus pacientes:

- As s.a. mais difíceis de prescrever/administrar são a furosemida, alfuzosina, prazosina, metronidazol, mirtazapina e omeprazol (por não haver forma farmacêutica/dosagem adequada);
- O ideal para administrar a gatos são fórmulas orais, nomeadamente com sabor a banana;
- O tramadol não existe no mercado com dosagem adequada a gatos.

Após estes contactos, chegou-se à conclusão que existem, de facto, dificuldades na prescrição/tratamento no dia-a-dia dos médicos veterinários e que seria importante ouvir um maior número destes profissionais de saúde animal para obtenção de dados mais concretos e representativos. Partiu-se, então, para a elaboração do questionário (Figura 14).



Figura 14 - Imagem do questionário dos Formulários do Google disponibilizado *on-line* para preenchimento por médicos veterinários.

O inquérito realizado foi preenchido de forma válida por 63 médicos veterinários, que se disponibilizaram para identificar os MUV que, na sua opinião, são difíceis de administrar aos animais ou estão em falta no mercado português.

Caracterizando a amostra, pudemos constatar que apesar de terem respondido médicos veterinários de todas as idades (Figura 15) e de todo Portugal continental (Figura 16), a maior parte dos clínicos exercia a sua atividade entre a região de Lisboa e o norte do país (93,6%) e tinha entre 20 e 40 anos de idade (80,9%).

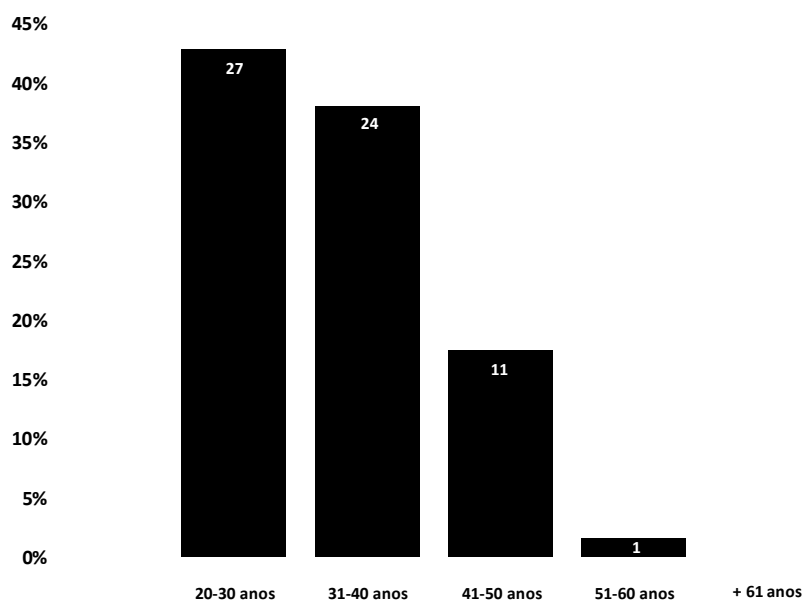


Figura 15 – Faixa etária dos médicos veterinários que responderam ao questionário. Cada coluna representa a percentagem de respostas obtidas, sendo o número absoluto indicado no interior das mesmas.

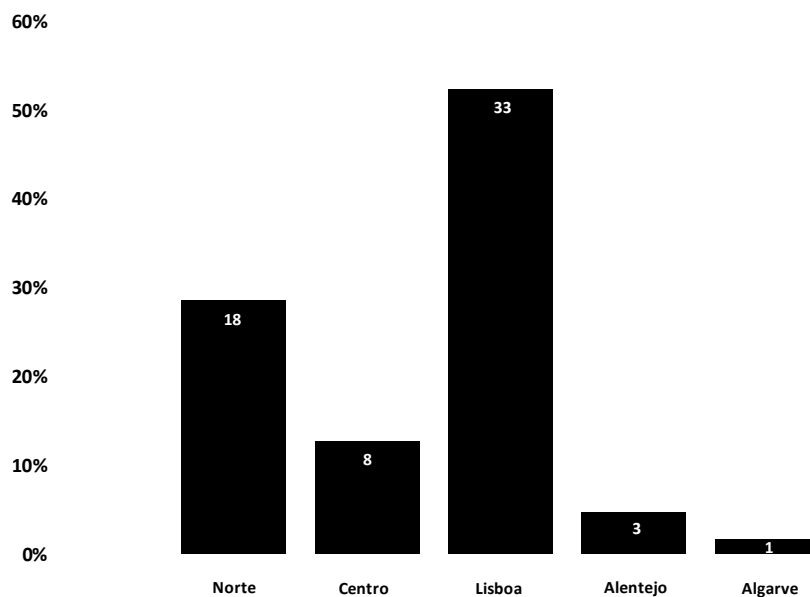


Figura 16 – Região onde os médicos veterinários que responderam ao questionário exercem a sua atividade. Cada coluna representa a percentagem de respostas obtidas, sendo o número absoluto indicado no interior das mesmas.

Quanto aos fármacos que os médicos veterinários indicaram como sendo mais difíceis de administrar aos animais, verificamos que as 110 referências encontradas se referem quase exclusivamente a terapêuticas instituídas a animais de companhia, a área clínica exercida por 96,8% dos veterinários que responderam ao questionário.

O fármaco apontado como o mais difícil de administrar foi o metronidazol, um antibacteriano com atividade também contra protozoários, referido por 20 veterinários (18,2%). Seguiu-se o tramadol (citado 10 vezes), a doxiciclina (citada 9 vezes), a furosemida e o omeprazol (citados 8 vezes cada). O ácido ursodesoxicólico, a gabapentina e a ranitidina foram citados 4 vezes cada, e a amoxicilina com ácido clavulânico e o flavoxato 3 vezes cada (Figura 17). Os restantes 27 fármacos foram referenciados por apenas 1 ou 2 clínicos, não estando representados graficamente. De entre estes, encontramos 2 referências à aminofilina, atenolol, bromexina, clindamicina, famotidina, fluoxetina, itraconazol, metoclopramida, mirtazepina, sulfametoxazol com trimetropim e 1 referência à acetilcisteína, ácido acetilsalicílico, ACTH sintética, amitriptilina, cefalosporina, digoxina, espiromicina com metronidazol, ferro, fludrocortisona, hidroxizina, ivermectina, levotiroxina, meloxicam, piroxicam, prednisolona, sildenafil e sucralfato.

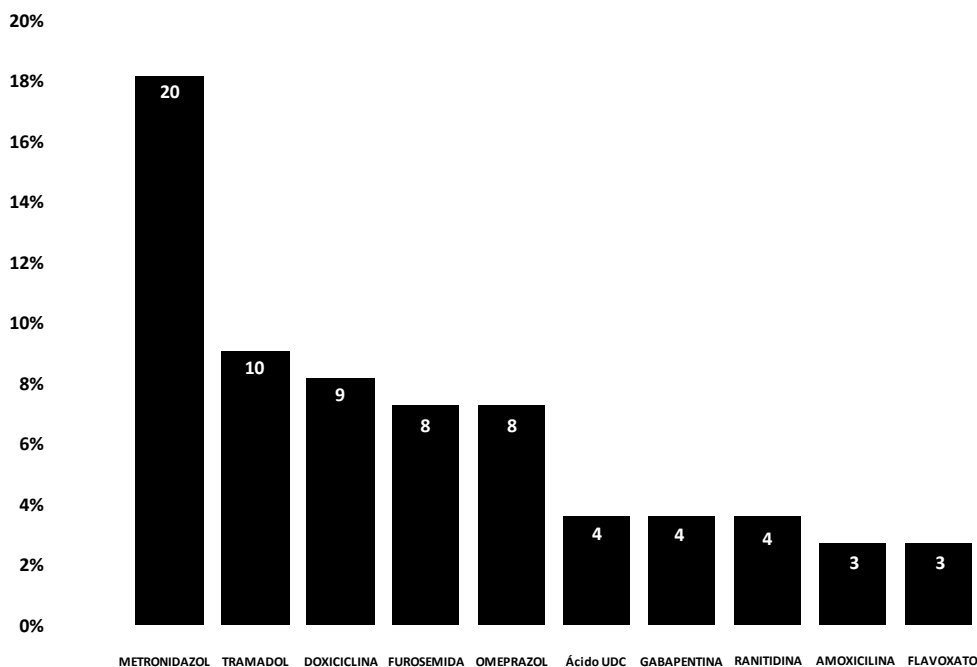


Figura 17 – Substâncias ativas mais difíceis de administrar a animais de companhia. Cada coluna representa a percentagem de respostas obtidas, sendo o número absoluto indicado no interior das mesmas.

Paralelamente à enumeração dos medicamentos de difícil administração, os médicos veterinários participantes neste estudo indicaram ainda em que consistiam essas dificuldades. Referiram então que alguns medicamentos, como o metronidazol e o tramadol são muito amargos, sendo frequentemente rejeitados pelos animais. No caso das formas farmacêuticas líquidas (como por exemplo a suspensão de amoxicilina com ácido clavulânico) foi também identificado como um problema a doçura e paladar das mesmas, que pareciam desagradar aos animais. Este problema parece ser mais frequente no caso dos gatos, uma espécie caracteristicamente neofóbica, capaz de rejeitar comida ou medicamentos considerados palatáveis por outras espécies (65), originando frequentemente hipersíalia.

Contudo, mesmo que a questão não seja o paladar, a medicação pode não ser bem-sucedida se o animal for muito grande ou muito pequeno, pois o ajuste da dose ao animal em causa leva, frequentemente, à administração de 10 comprimidos ou a 1/10 de comprimido numa só toma. Quando a quantidade é muito pequena, é frequente partir comprimidos em mais do que 4 quartos ou pulverizar o comprimido antes de o diluir em água ou comida. Esta prática aumenta muito o erro de cada prescrição, que piora quando se pretende administrar uma forma farmacêutica diferente do comprimido como as cápsulas, comprimidos efervescentes, comprimidos gastrorresistentes, revestidos ou orodispersíveis e de libertação lenta. Nessa circunstância, a farmacocinética de cada medicamento fica alterada, sendo a sua semivida uma incógnita. Mesmo que o animal ingira a totalidade do fármaco, se este estava disponibilizado sob a forma de cápsula gastrorresistente e o veterinário abriu-a para misturar o pó com a comida (colocando em causa a estabilidade físico-química do fármaco), então é provável que o fármaco seja destruído pelo pH gástrico ou que seja mal absorvido ao longo do aparelho digestivo.

Quanto às formas farmacêuticas líquidas, apesar destas facilitarem a administração a animais com pesos muito diferentes, alguns veterinários referem que há falta no mercado de mais MUV, sendo as soluções/suspensões/xaropes à venda em Portugal geralmente MUH, com elevada percentagem de açúcar, aromatizados de acordo com o gosto dos humanos e com doses desadequadas ao tratamento dos animais de companhia.

Optando-se por fazer um manipulado, devem ser utilizadas matérias-primas compradas especialmente para o efeito e com qualidade farmacêutica. Desaconselha-se a modificação de medicamentos disponíveis comercialmente, pois pode levar a (20):

- i. Instabilidade do medicamento, afetando a absorção da substância ativa.
- ii. Diminuição da eficácia (o esmagar de um comprimido gastrorresistente pode resultar na destruição do fármaco no ambiente ácido do estômago).
- iii. Diminuição da adesão à terapêutica por falta de palatabilidade do medicamento.
- iv. Efeitos secundários indesejados.
- v. Aumento da toxicidade (por exemplo esmagar um comprimido de libertação prolongada pode levar a uma sobredosagem).
- vi. Perigo para os profissionais de saúde (manipular citotóxicos).

Pelo exposto, considerando a opinião expressa pelos médicos veterinários que responderam ao questionário efetuado, optou-se por desenvolver uma suspensão oral para cães e gatos, que pudesse funcionar como veículo para facilitar a administração de fármacos difíceis, como o metronidazol. Como referido, este fármaco não só é amargo como está comercializado para a medicina veterinária sob a forma de comprimidos de 250 ou 500 mg, sendo necessário para cães e gatos de pequeno porte partir os comprimidos em mais do que 4 quartos ou pulverizá-los (ver na introdução 1.5.2.1, Tabela 2 e Tabela 3).

4.2 Desenvolvimento do veículo

4.2.1 Determinação da concentração de Avicel® RC-591

Não parece haver diferenças na agitação por agitador a hélice (700 rpm) ou por agitação em agitador magnético (700 rpm). No entanto, por razões práticas e de equipamento, usou-se o agitador magnético para quantidades pequenas de suspensão (< 100mL) e o agitador a hélice para quantidades maiores de suspensão (≥ 100 mL).

Prepararam-se suspensões de água purificada com diferentes concentrações de ARC: 1%, 1,5%, 2%, 2,5% e 3%. A viscosidade foi medida ao tempo 0, 1, 3, 7 e 14 (após preparação, após 1 dia, após 3 dias, após 7 dias e após 14 dias).

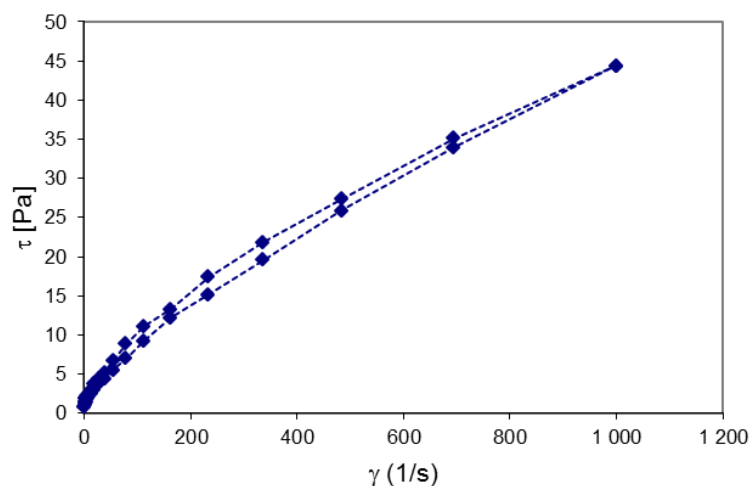


Figura 18 – Comportamento reológico de uma suspensão de Avicel® RC-591 a 2% ao t7.

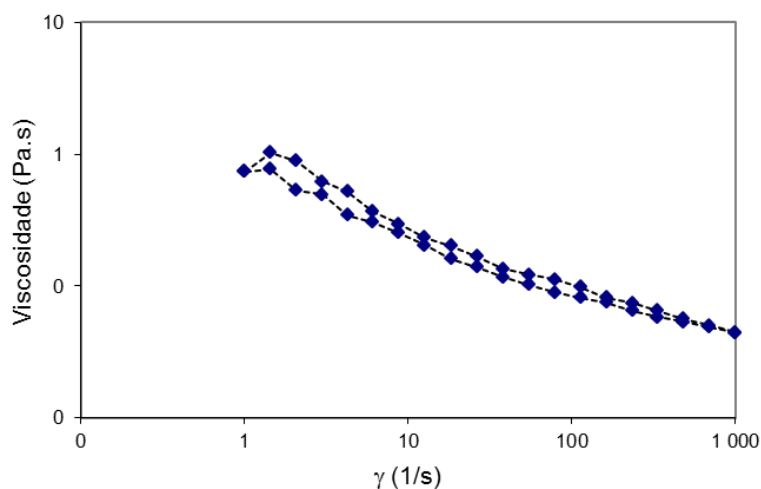


Figura 19 – Curva de escoamento de uma suspensão de Avicel® RC-591 a 2% ao t7.

As suspensões de ARC têm um comportamento reofluidificante, tal como se verifica pela análise das figuras acima representadas (Figura 18 e Figura 19). A título de exemplo, mostra-se os dados obtidos com a suspensão de ARC a 2%, 7 dias após preparação, mas todas as outras concentrações de agente suspensor apresentam o mesmo padrão de comportamento reológico.

Tabela 10 – Resultado da avaliação reológica das suspensões com diferentes concentrações de Avicel® RC-591, ao tempo 0 e ao tempo 14, aplicando o Modelo de Herschel-Bulkley.

Tempo 0

[ARC]	K	n	τ_0	R^2	η [Pa.s]	
					γ 12,64 s ⁻¹	γ 162,3 ⁻¹
1,0%	0,0447	0,8588	0,0785	0,9987	0,0292	0,0197
1,5%	0,1298	0,7642	-0,0716	0,9992	0,0876	0,0395
2,0%	0,2547	0,7023	0,0302	0,9995	0,1070	0,0569
2,5%	0,4094	0,6795	0,7819	0,9997	0,2243	0,0813
3,0%	0,5917	0,6547	2,3215	0,9992	0,4190	0,1153

Tempo 14

[ARC]	K	n	τ_0	R^2	η [Pa.s]	
					γ 12,64 s ⁻¹	γ 162,3 s ⁻¹
1,0%	0,0664	0,7904	-0,2086	0,9980	0,0292	0,0220
1,5%	0,2060	0,6914	-0,1018	0,9990	0,0877	0,0432
2,0%	0,3045	0,6830	0,8143	0,9995	0,1949	0,0652
2,5%	0,4282	0,6719	2,4602	0,9992	0,3700	0,0941
3,0%	0,5792	0,6636	4,2356	0,9984	0,5453	0,1283

Foram comparados os resultados obtidos logo após a sua preparação (t0) e 14 dias depois (t14). A viscosidade foi medida a baixa velocidade de corte (12,64 s⁻¹) e a elevada velocidade de corte (162,3 s⁻¹) (Tabela 10).

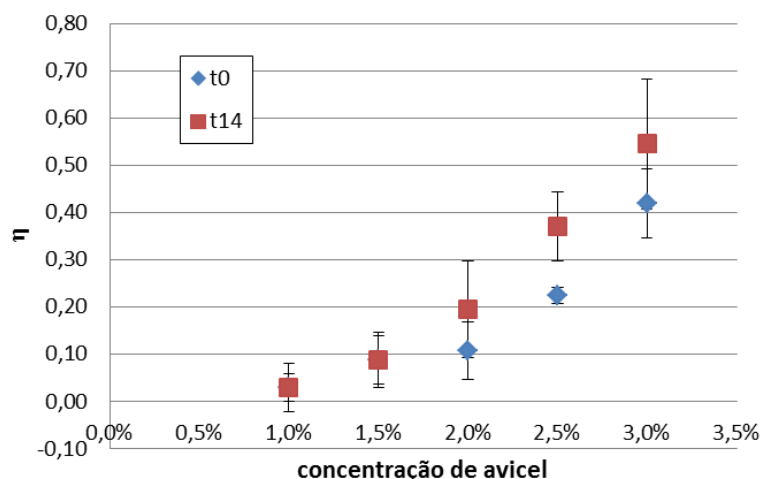


Figura 20 - Variação da viscosidade (Pa.s) das suspensões com o aumento da concentração de Avicel® RC-591, a t0 e t14, a baixa velocidade de corte (12,64 s⁻¹).

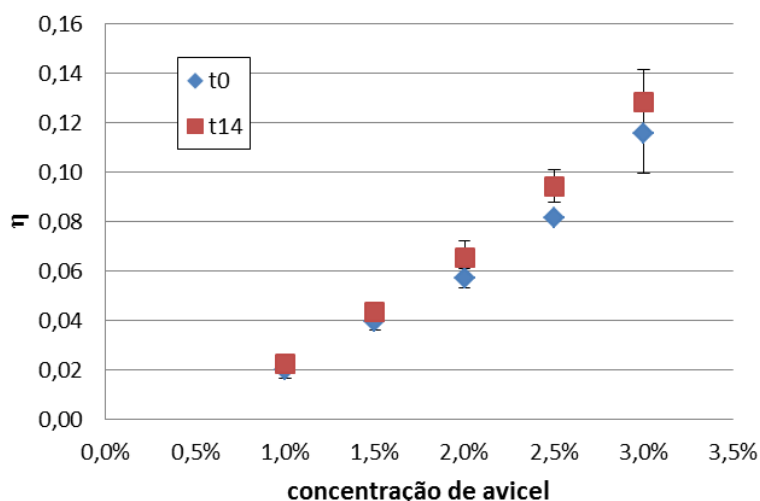


Figura 21 - Variação da viscosidade (Pa.s) das suspensões com o aumento da concentração de Avicel® RC-591, a t0 e t14, a elevada velocidade de corte (163,3 s⁻¹).

Para as concentrações de ARC de 2,5 e 3%, o efeito do tempo é mais pronunciado (aumenta a viscosidade da suspensão) (Figura 20 e Figura 21). Nas concentrações próximas de 1%, com o passar dos dias, não se nota muita variação da viscosidade da suspensão.

Dada a viscosidade e a manutenção das suas características reológicas com o tempo apresentadas pela suspensão a 2%, escolheu-se esta concentração em Avicel® RC-591 para prosseguir o desenvolvimento da fórmula pretendida. De referir que, para administração a animais, se pretende obter uma suspensão com maior viscosidade do que aquela que é habitual em MUH, uma vez que o objetivo é que o animal, uma vez com o medicamento na boca, não o expulse facilmente e antes o engula. Também se

considerou que esta viscosidade permite uma boa extrusão a partir de seringas de 1, 2 e 5 mL, que são, possivelmente, o meio mais fácil e seguro para o proprietário levar a cabo a administração.

Em termos macroscópicos todas as suspensões mantiveram o mesmo aspeto um mês após a preparação.

4.2.2 Determinação da concentração de goma xantana

O aspeto típico de uma suspensão com ARC como agente suspensor é leitoso e homogêneo (Figura 22). A adição de goma xantana não causa alteração no aspeto macroscópico das suspensões, exceto pelo aumento de viscosidade que proporciona ao sistema.



Figura 22 – Aspeto típico de uma suspensão de água purificada com Avicel® RC-591 como agente suspensor.

O valor de pH manteve-se invariável ($\text{pH} \approx 7$) antes e depois da adição de qualquer das concentrações de GX.

Com o objetivo de determinar qual a melhor concentração de agente flocculante na fórmula, mediu-se a viscosidade de 3 suspensões com a concentração de 2% de ARC e 0,2, 0,4 e 0,6% de GX, respetivamente. (0,2% corresponde nos gráficos e tabelas a 10% da quantidade de ARC, assim como 0,4% corresponde a 20% e 0,6% corresponde a 30%).

Tabela 11 – Resultado da avaliação reológica das suspensões de Avicel® RC-591 a 2% adicionadas de GX em diferentes percentagens, ao tempo 0 e ao tempo 14, aplicando o Modelo de Herschel-Bulkley.

Tempo 0

[GX]	K	n	τ_0	R^2	η [Pa.s]	
					γ 12,64 s ⁻¹	γ 162,3 ⁻¹
10%	0,9069	0,4860	1,3856	0,9938	0,3800	0,0736
20%	1,1104	0,4906	6,5150	0,9927	0,8377	0,1160
30%	1,3025	0,4914	7,0160	0,9948	0,9647	0,1370

Tempo 14

[GX]	K	n	τ_0	R^2	η [Pa.s]	
					γ 12,64 s ⁻¹	γ 162,3 s ⁻¹
10%	0,9369	0,5071	2,8463	0,9924	0,4967	0,0843
20%	1,7463	0,4249	5,3407	0,9953	0,8473	0,1243
30%	1,6293	0,4681	7,9280	0,9961	1,0717	0,1503

Foram comparados os resultados obtidos após preparação (t0) e 14 dias após preparação (t14). A viscosidade foi medida a baixa velocidade de corte (12,64 s⁻¹) e a elevada velocidade de corte (162,3 s⁻¹) (Tabela 11).

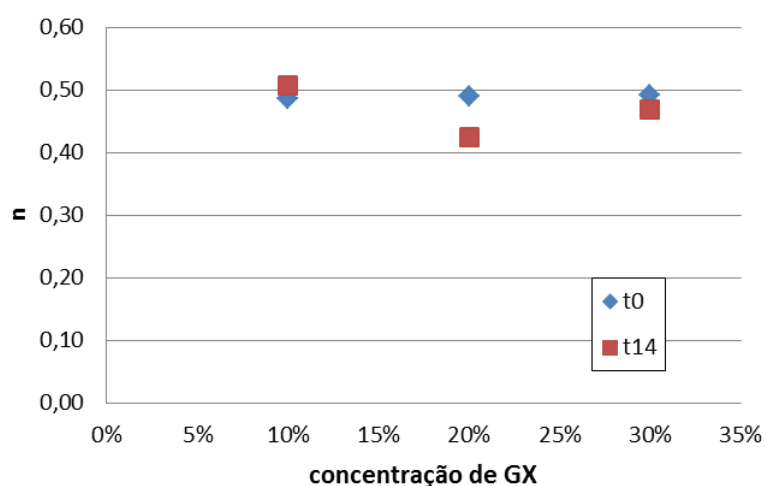


Figura 23 – Variação de n com o tempo.

O valor de n (índice de escoamento) é inferior a 1 em todas as suspensões, pelo que ao adicionar-se GX à fórmula esta mantém o seu comportamento reofluidificante, i.e., à medida que se aumenta a velocidade de corte sobre as preparações, estas vão ficando mais fluidas (Figura 23).

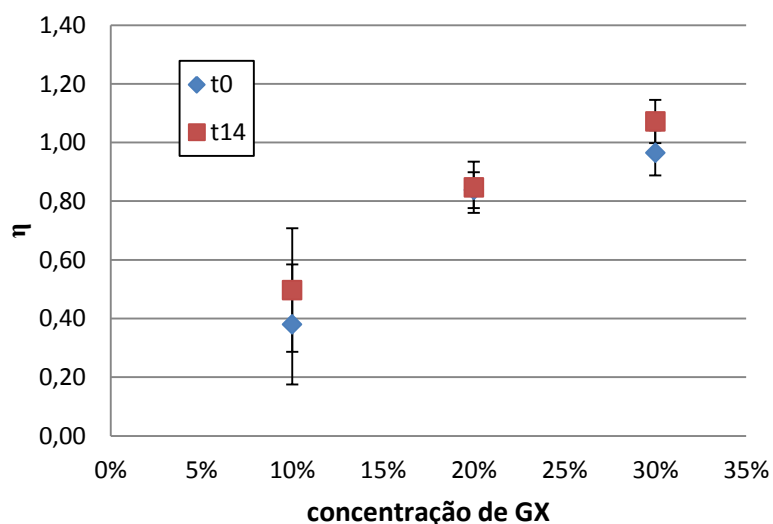


Figura 24 - Variação da viscosidade (Pa.s) das suspensões com o aumento da concentração de GX, a t_0 e t_{14} , a baixa velocidade de corte ($12,64 \text{ s}^{-1}$).

Na Figura 24 vemos a viscosidade das suspensões (média de 3 amostras), no dia da preparação (t_0) e 14 dias depois (t_{14}). Também estão representados os desvios padrão das viscosidades. A baixa velocidade de corte, a concentração de 20% de GX (0,4% na FF) é a que apresenta resultados mais semelhantes ao longo do tempo.

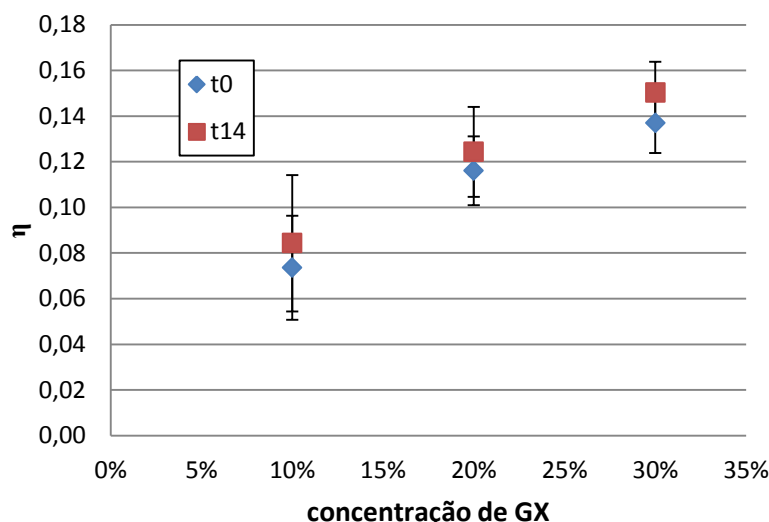


Figura 25 - Variação da viscosidade (Pa.s) das suspensões com o aumento da concentração de GX, a t0 e t14, a elevada velocidade de corte ($162,3 \text{ s}^{-1}$).

Pela análise das Figuras acima, vemos que a concentração de 0,4% de GX na fórmula final (equivalente a 20% da quantidade de agente suspensor presente) é a que apresenta maior estabilidade ao longo dos dias (Figura 24 e Figura 25). O desenvolvimento do veículo pretendido prosseguiu, então, com Avicel® RC-591 a 2% e goma xantana a 0,4%.

4.2.3 Determinação da concentração dos conservantes

A seleção dos agentes conservantes teve por base uma avaliação prévia de diversos fatores, designadamente o espectro alargado de ação antimicrobiana e a ausência de toxicidade.

A 1ª FF (suspensão nº 1) tinha uma elevada concentração de parabenos, 0,5% de cada um, o que ultrapassa o limite do que é recomendado para cada (24). A suspensão tinha um odor e paladar característico da presença destes conservantes. Na 2ª FF testou-se o metilparabeno sódico a 0,07%, o que está de acordo com a bibliografia, que aconselha concentrações entre 0,015 - 0,2% para suspensões orais. O propilparabeno sódico a 0,03% nesta fórmula, não cumpre as recomendações de 0,01 - 0,02% (24). Na 4ª FF usou-se a concentração mínima prevista (24) para ambos os parabenos (0,015% para o metilparabeno sódico e 0,01% para o propilparabeno sódico). Comparando as 4 FF, percebe-se facilmente que os conservantes possuem

um paladar característico, que se mantém na boca mesmo depois da ingestão, “*aftertaste*”, conferindo um mau sabor à preparação. Não se sabe se os animais alvo têm percepção deste paladar ou não.

As suspensões foram armazenadas e cobertas com *parafilm* durante 40 dias. Ao contrário das outras suspensões, na 3ª FF houve desenvolvimento de fungos (Figura 26). As preparações com metilcelulose são suscetíveis ao ataque microbiano pelo que é imprescindível a presença de conservantes nestas fórmulas. Na 4ª FF não houve crescimento de fungos (visíveis a olho nu) após 40 dias de armazenamento à temperatura ambiente, o que indica que usando a concentração mínima prevista para o metil e o propil parabenos se obtém uma boa eficácia conservante, com a menor alteração de paladar possível.

O desenvolvimento do veículo prosseguiu com metilparabeno sódico a 0,015% e propilparabeno sódico a 0,01%.



Figura 26 – 3ª FF 40 dias após preparação.

4.2.4 Determinação da concentração da frutose

O pH das suspensões não apresentou grandes variações: suspensão nº5 pH = 6,96, suspensão nº7 pH = 6,05 e suspensão nº8 pH = 6,20. A exceção foi a suspensão nº 6 (com benzoato de sódio 0,02% em vez da mistura de parabenos) que teve que ser acidificada a pH 4 (nº6 = 4,14). O paladar da 6ª FF melhora ligeiramente quando

comparado com as suspensões com parabenos mas nota-se uma certa acidez, mesmo na presença da frutose.

Quarenta dias após a preparação, todas estas suspensões se apresentaram, em termos organoléticos, estáveis. Não desenvolveram fungos visíveis, cheiro nem alteração da cor e aspeto.

À semelhança das suspensões com parabenos, a suspensão com benzoato de sódio também aparenta manter a conservação, à temperatura ambiente, durante pelo menos quarenta dias. Por razões práticas, e apesar do mau sabor conferido pelos parabenos às suspensões orais (descrito empiricamente por algumas pessoas como “sabor a sabonete”), optou-se por manter parabenos sódicos daqui em diante. As suspensões com benzoato de sódio demorariam mais a preparar uma vez que precisam de ser acidificadas.

Após análise dos resultados foi decidido usar daqui em diante 11% de frutose, sempre que houver necessidade que o veículo seja edulcorado.

4.2.5 Determinação da concentração dos aromas

Os aromas a pescado, fígado, atum, carne e peixe foram testados na 4ª FF (sem frutose). Os aromas frutas vermelhas, banana, laranja, plátano, baunilha, tutti-frutti, limão e lactantes foram testados na 8ª FF (11% frutose), por serem aromas frutados e, por isso, estarem associados ao paladar doce (Tabela 12).

Tabela 12 – Concentrações finais dos diferentes aromas testados.

4ª FF (sem frutose)	8ª FF (11% frutose)
Pescado 2% *	Frutas vermelhas 1%
Fígado 1,5% *	Banana 1,5% *
Atum 1%	Laranja 1% *
Carne 1%	Plátano 2%
Peixe 1%	Baunilha 1%
	Tutti-Frutti 1% *
	Limão 1% *
	Lactantes 1%

*Aromas sem PG

Foram mantidas as designações “pescado” e “plátano” em espanhol para se diferenciarem dos aromas peixe e banana, que são de um fornecedor diferente.

O aroma a citrinos (Lucta) não é miscível nas suspensões por ser lipófilo, pelo que foi rejeitada a sua futura utilização. Todos os outros aromas têm características hidrófilas, pelo que a sua dispersão na fórmula foi fácil.

Estas concentrações de aromas foram as que pareceram mais adequadas, numa análise sensorial preliminar e empírica. Não existe a garantia do que agradaria mais a cada grupo de animais mas, na impossibilidade dessa certeza (e antes de se executar os testes de palatabilidade), decidimos avançar com o que pareceu mais agradável à maioria das pessoas que testaram as suspensões.

Nos testes de palatabilidade realizados em cães e gatos foram testadas as seguintes suspensões em que os aromas foram selecionados com base na bibliografia consultada (9, 39-41):

- Cães – carne 1%, fígado 1,5% e frutas vermelhas 1%.
- Gatos – pescado 2%, fígado 1,5% e banana 1,5%.

É verdade que, neste trabalho, se estudou as preferências de cães e de gatos de modo a escolher um aroma geral destinado a cada um desses grupos de animais. No entanto, nada impede que, no momento do aviamento da receita médico-veterinária o proprietário não possa escolher outro aroma especificamente adaptado ao gosto do seu animal de estimação.

4.2.6 Adição da substância ativa e do corante ao veículo

A 4ª FF com metronidazol apresentou-se com bom aspeto, com o fármaco distribuído uniformemente, do ponto de vista macroscópico (Figura 27). Obteve-se uma suspensão mais elegante se se pulverizasse o metronidazol previamente à sua adição, pois este pó ficava mais finamente disperso.

Sem acréscimo de aroma, e tal como se encontra descrito (66), este anti-infeccioso tem um paladar muito amargo, pelo que se torna imperativo disfarçá-lo.

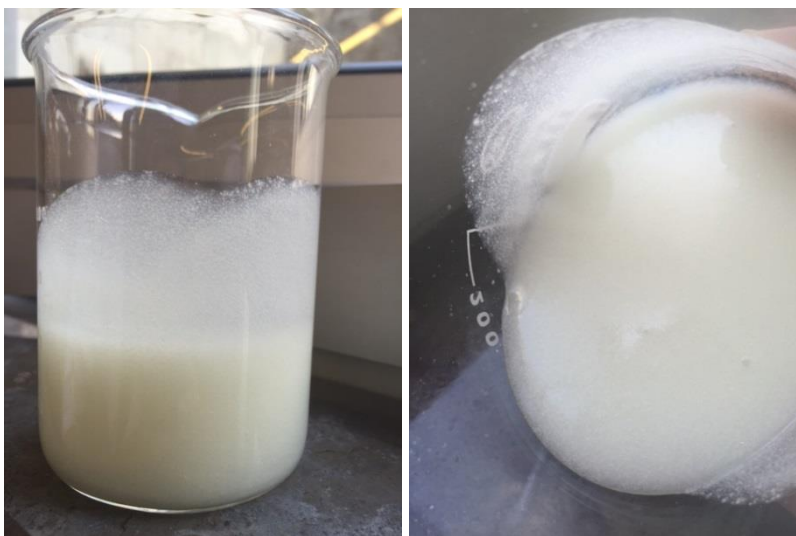


Figura 27 – Aspeto da 4ª FF com metronidazol 200 mg/mL.



Figura 28 – Aspeto da 9ª FF com metronidazol 200 mg/mL, aroma de carne a 1% e corante vermelho a 0,0023%.

Adicionou-se corante vermelho na percentagem de 0,0023, que conferiu uma cor adequada à preparação. O metronidazol tem uma taxa de dissolução de 1 g/100mL (67), ora, nesta preparação estava doseado a 20 g/100 mL, pelo que se encontrava disperso. O corante fez sobressair a boa distribuição da substância ativa pela suspensão (Figura 28).

O aroma de carne a 1% não foi suficiente para disfarçar o mau paladar do metronidazol. Aumentou-se a sua concentração para 1,5% sem resultados satisfatórios.

O metronidazol é um composto muito amargo, e por isso usa-se habitualmente para formulações orais o seu sal benzoato. Ao longo deste trabalho tentou-se junto de vários fornecedores de matérias-primas obter o benzoato de metronidazol, de forma a obviar o problema do mau sabor, mas nenhum tinha esta matéria-prima disponível. Sendo assim, usou-se o metronidazol e optou-se por adoçar as preparações de forma a diminuir a sensação de amargura (68). A frutose foi adicionada mesmo às suspensões com aroma de carne (a ideia inicial era apenas juntar frutose às suspensões com aroma a fruta). Como nestas condições o gosto particular do metronidazol se manteve, introduziu-se o aroma a laranja, por ser o mais agradável na perceção humana. Contudo, não foi possível ocultar o paladar intenso do metronidazol, sendo necessário efetuar mais estudos para obviar esta questão.

4.3 Testes de preferência

Tendo-se obtido uma suspensão com boas características para administrar a animais de companhia, foram realizados testes de preferência entre 3 aromas diferentes a 30 cães e 33 gatos de companhia. Os testes foram realizados no ambiente que era familiar ao animal (a casa dos tutores), tendo sido incluídos animais de qualquer género (castrados ou inteiros), raça, idade (desde que adultos) e peso, desde que considerados saudáveis. Este tipo de teste difere daqueles em que se recorre a painéis de animais treinados especificamente para testes de palatabilidade, mas permite obter alguma informação relativamente à preferência dos aromas numa população de animais que se assemelha à população alvo deste estudo (8). Admite também que se recrutem animais de qualquer raça sabendo que, algumas características fisiológicas como a forma do focinho, podem variar consideravelmente. Contudo, não parecem existir evidências que indiquem que uma raça tenha mais capacidade de discernir paladares do que outra (49).

Na avaliação do teste realizado considerou-se como “primeira aproximação” o prato para o qual o animal se dirigiu primeiro, independentemente de ter evitado ou ingerido parte (ou a totalidade) da suspensão de seguida. Este parâmetro avalia o comportamento do animal face ao aroma, que por sua vez pode ser influenciado pela temperatura e humidade (49). Uma vez que todas as suspensões foram disponibilizadas aos tutores em frascos de vidro rolhados, devidamente identificados, com a indicação de proceder ao teste em poucos dias, não nos parece provável que tenham existido grandes variações da suspensão até ao momento em que foi disponibilizada. A “preferência” foi um parâmetro utilizado para avaliar apenas o comportamento dos gatos, pois após as avaliações iniciais tornou-se óbvio que estes animais dificilmente ingeririam qualquer uma das suspensões, apesar de por vezes demonstrarem mais interesse por um dos aromas (voltavam várias vezes ao mesmo prato e/ou passavam mais tempo a explorar um determinado aroma). Este comportamento pode estar associado à neofobia que alguns animais apresentam relativamente ao alimento, recusando-se a ingeri-los por lhes serem estranhos. Este comportamento é mais comum nos gatos (apesar de também estar descrito em cães) e está identificado como uma das variáveis individuais que pode afetar os resultados dos testes de palatabilidade (48). A “ingestão” da suspensão foi considerada quando os animais ingeriram de forma voluntária a preparação. No caso dos cães foi possível distinguir entre “ingestão parcial” e “ingestão total”, mas no caso dos gatos a distinção não foi necessária, pois nenhum dos animais ingeriu a suspensão na totalidade. Quando o animal não se aproximou, nem mostrou qualquer interesse por determinado

prato, considerou-se a resposta como sendo de “indiferença” pelo aroma testado. Se o animal se aproximou do prato, mas de seguida manifestou um comportamento de repulsa, com expressões faciais típicas, comportamento de fuga ou hipersialia, então considerou-se a resposta como sendo de “desagrado”.

Nos cães foram disponibilizados 3 pratos, cada um com suspensão em teste com aroma a carne, fígado e frutos vermelhos. Participaram igual número de fêmeas e machos, maioritariamente inteiros (63%) de raça definida (57%). Nesta população de cães a idade média foi de 6,7 anos, com um peso médio de 19,6 Kg (por esse motivo doseou-se o metronidazol para cães de 20 Kg) (Figura 29).

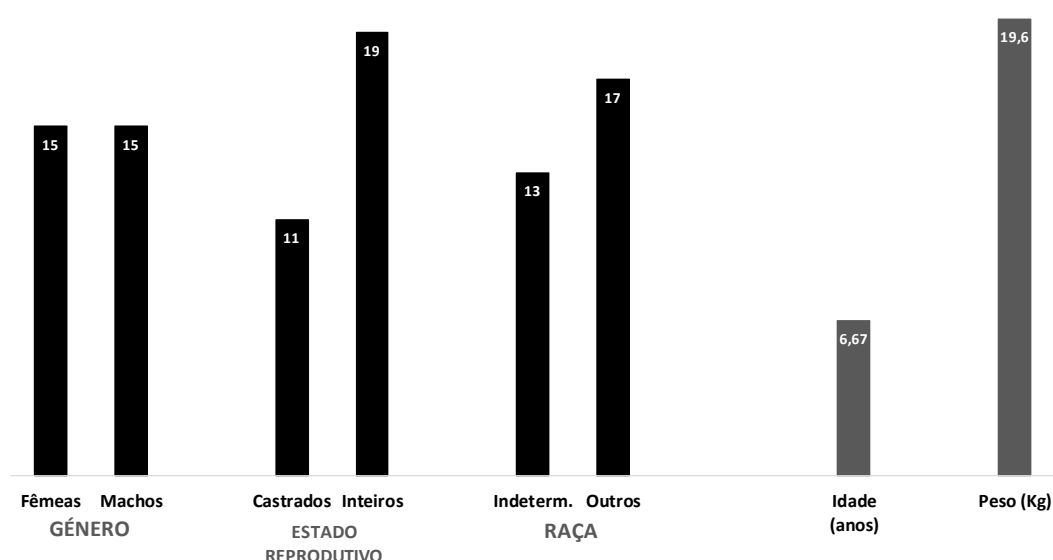


Figura 29 – Caracterização da amostra de cães que participaram nos testes de preferência (n=30).

Quanto ao teste de preferência realizado, verificou-se que os cães se aproximavam de forma praticamente indistinta dos pratos com os 3 aromas (36,7% carne, 30,0% fígado e 30,0% frutos vermelhos). Contudo, ingeriam preferencialmente as suspensões com aroma a carne ou fígado, sendo a soma dos animais que se aproximavam ou ingeriam parcial ou totalmente as suspensões que continham estes aromas de 80,0% para a carne e 73,3% para o fígado. Considerando que os aromas menos apelativos causam indiferença ou expressões de desagrado dos animais, podemos considerar que a suspensão com aroma a frutos vermelhos foi a menos apelativa, pois 40,0% dos animais manifestou esse comportamento (soma das observações de indiferença e desagrado) (Figura 30).

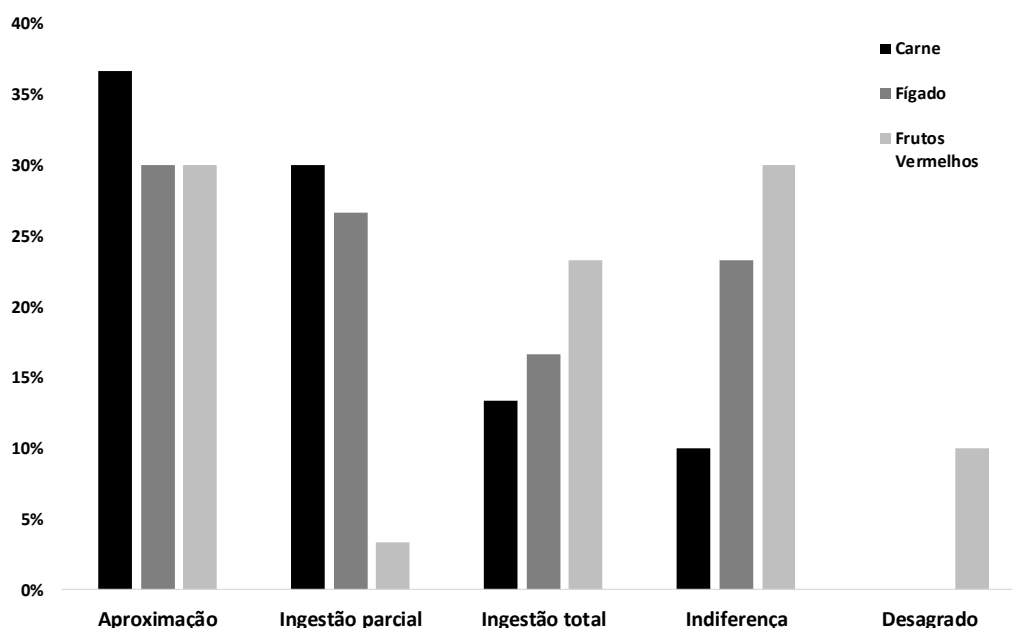


Figura 30 – Estudo de preferência dos cães entre 3 suspensões com aroma a carne, fígado e frutos vermelhos (n=30).

Aos gatos foram disponibilizados 3 pratos, cada um com 5 mL da suspensão em teste com aroma a pescado, fígado e banana. Participaram 60,6% de fêmeas e 39,4% de machos, maioritariamente castrados (87,9%), europeus comuns (87,9%). Nesta população a idade média foi de 5 anos, com peso médio de 3,8 Kg (Figura 31).

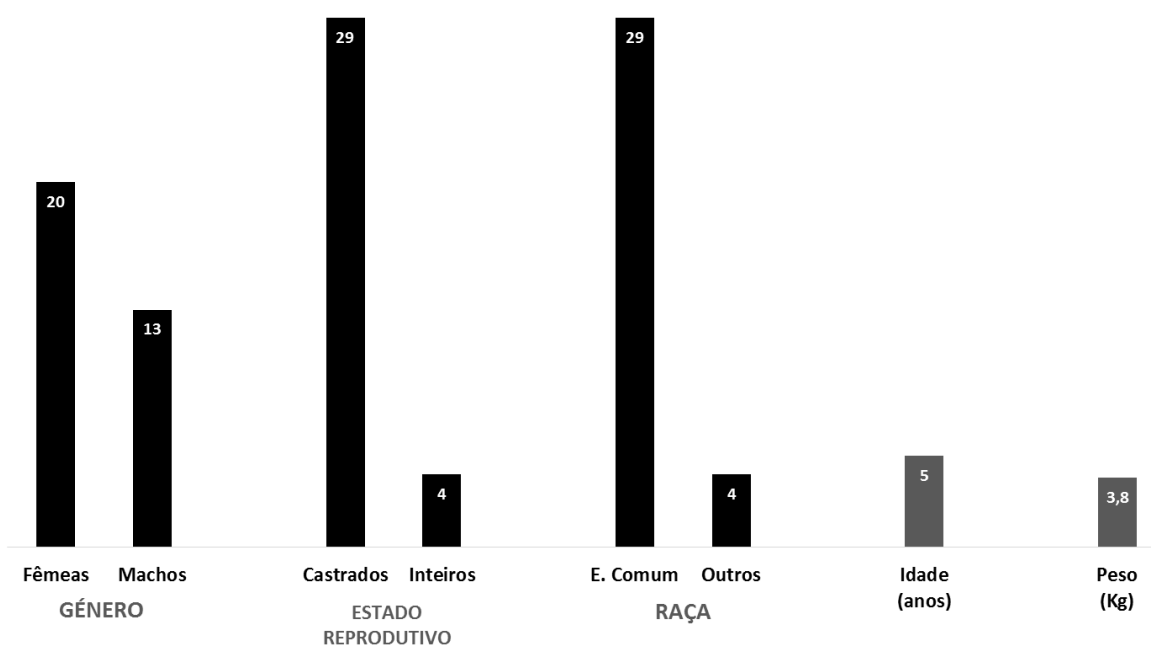


Figura 31 – Caracterização da amostra de gatos que participaram nos testes de preferência (n=33).

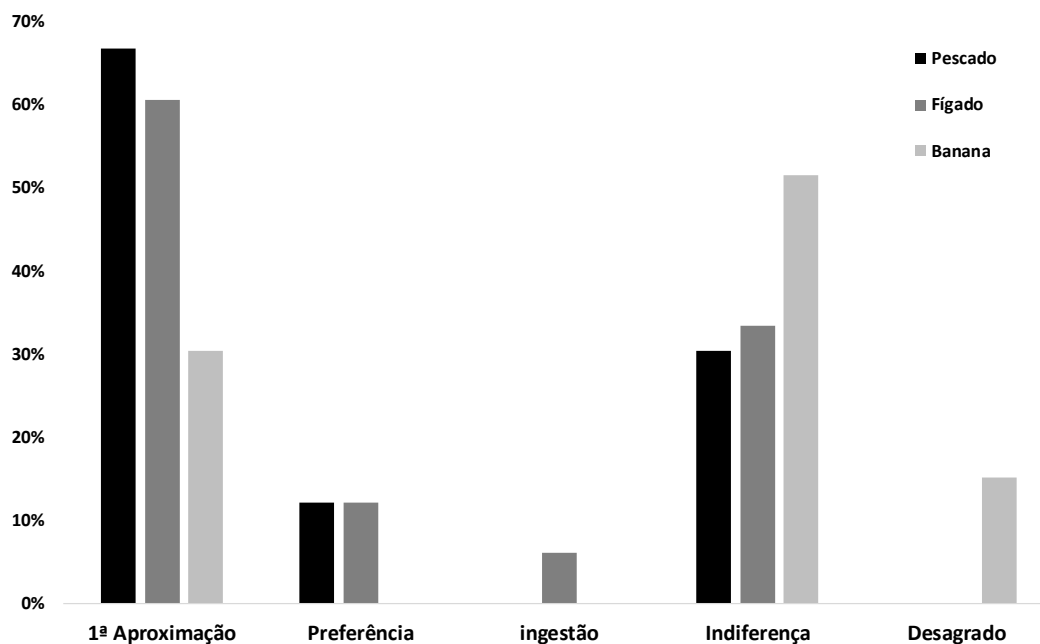


Figura 32 - Estudo de preferência dos gatos entre 3 suspensões com aroma a pescado, fígado e banana (n=33).

Quanto ao teste de preferência realizado nos gatos, verificou-se que os animais se aproximavam mais dos pratos com aroma a pescado (66,7%) e fígado (60,6%), em detrimento do aroma a banana (30,3%). Contudo, somando os valores obtidos na “1ª aproximação” com os da “preferência” e “ingestão” (comportamentos associados a um aroma considerado agradável), verificamos que o aroma a pescado e fígado se equivalem (78,8% em ambos os casos). Já o aroma a banana poderá ser considerado mais desagradável, com 66,7% dos gatos a manifestar comportamentos de indiferença e desagrado (soma dessas observações) (Figura 32).

Dos testes de preferência realizados nas populações referidas de cães e gatos foi possível verificar que estas duas espécies apresentaram comportamentos alimentares muito diferentes, estando os cães mais dispostos a experimentar novos alimentos, aproximando-se e ingerindo frequentemente as suspensões disponibilizadas. Já os gatos manifestaram um comportamento neofóbico, aproximando-se com cautela dos pratos, tendo só 2 animais ingerido parcialmente (uma ou duas lambidelas) a suspensão com aroma a fígado. Neste estudo preliminar foi possível verificar que os cães manifestam preferência pelos aromas a carne (80,0%) e fígado (73,3%) e os gatos pelos aromas a pescado e fígado (78,8% em ambos os casos) (Figura 30 e Figura 32). Ficou ainda claro que os aromas frutados

foram considerados menos agradáveis quer pelos gatos (aroma a banana, 66,7%) quer pelos cães (aroma a frutos vermelhos, 40,0%) (Figura 30 e Figura 32). Curiosamente, verificou-se que os 8 cães que ingeriram a suspensão com aroma a frutos vermelhos ingeriram também as restantes duas suspensões, com aroma a carne e fígado, demonstrando estes animais ter um comportamento de avidez que pode ser considerado prejudicial em teste de preferência.

Estes resultados parecem estar de acordo com o comportamento alimentar destas espécies, que preferem aromas que existem na carne, apresentados como proteínas hidrolisadas ou digeridas enzimaticamente (69).

4.4 Estudo da estabilidade

4.4.1 Determinação do pH

Um dos indicadores de estabilidade avaliado foi o pH das suspensões finais. Foram efetuadas medições nas 3 amostras guardadas em câmara climática logo após a preparação e passados 7, 14 e 30 dias.

Tabela 13 - Variação dos valores de pH das suspensões finais ao longo dos dias.

<i>Temperatura</i>	25°C				40°C			
<i>Tempo (dias)</i>	0	7	14	30	0	7	14	30
Amostra A	6,36	6,15	5,68	5,46	6,66	5,94	4,91	5,34
Amostra B	6,20	6,17	5,72	5,33	6,56	5,93	4,95	5,28
Amostra C	6,21	6,28	5,56	5,24	6,63	5,90	4,84	5,25
Média	6,26	6,20	5,65	5,34	6,62	5,92	4,90	5,29

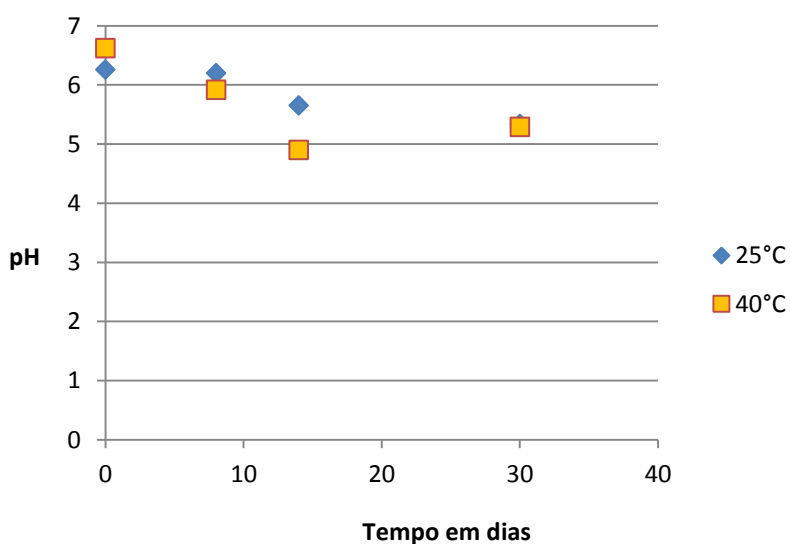


Figura 33 - Variação dos valores de pH da suspensão final ao longo dos dias.

Sete dias após a preparação, houve um abaixamento muito ligeiro do pH da suspensão a 25°C (0,06), mas a 40°C a diferença foi de menos 0,7 unidades de pH (Tabela 13).

Catorze dias após a preparação, o pH da suspensão armazenada a 25°C teve um abaixamento de 0,61 unidades em 14 dias. A suspensão armazenada a 40°C ficou com um pH 1,72 unidades mais ácido. O pH da suspensão armazenada a 25°C baixou 0,92 unidades em 30 dias. A suspensão armazenada a 40°C está 1,33 unidades de pH mais ácida. A variação dos valores de pH é um pouco maior na suspensão sujeita a ensaios acelerados, em que as condições de temperatura são elevadas (Figura 33).

Um mês após a preparação da suspensão, há um abaixamento de cerca de 1 unidade de pH, tanto para o armazenamento à temperatura ambiente como para o armazenamento a 40°C. Para uma formulação oral manipulada, ou seja, que não pressupõe um tempo de armazenamento prolongado, uma diminuição de pH de 6 para 5 não deverá apresentar qualquer tipo de inconveniente que ponha em causa a sua administração e o sucesso da terapêutica (considerando estas matérias-primas).

4.4.2 Identificação e doseamento do metronidazol

4.4.2.1 Identificação por espectrofotometria UV/VIS

Na Figura 34 pode ser visto o espectro característico do metronidazol obtido por espectrofotometria UV/VIS, com um máximo de absorção a 320 nm.

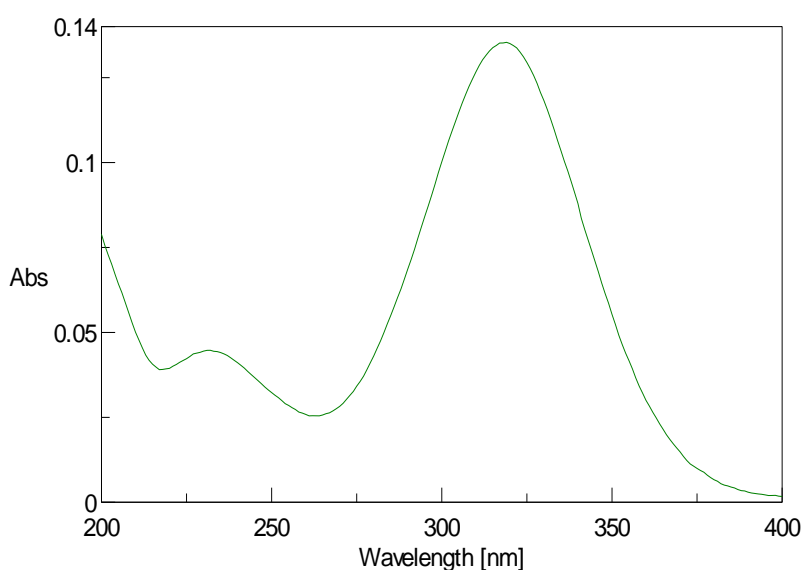


Figura 34 - Espectro UV/VIS do metronidazol.

4.4.2.2 Doseamento do metronidazol

Depois de otimizadas as condições de corrida, e usando como eluente uma mistura de água e metanol, com a proporção de 70:30 V/V, foi possível obter um pico bem separado do metronidazol, tal como se verifica na Figura 35.

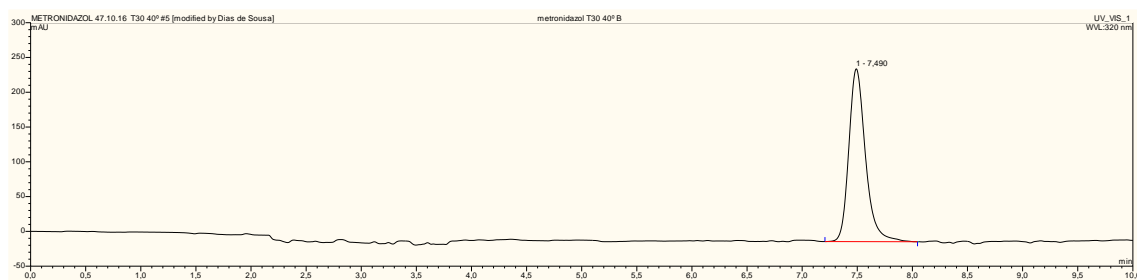


Figura 35 - Cromatograma do metronidazol na suspensão final.

Na Figura 36 pode ver-se que os espectros de absorção do pico, zona ascendente, máximo e zona descendente são coincidentes (lado direito da figura). Do lado esquerdo, o cromatograma da amostra não revela nenhum pico relevante que interfira com a nossa substância ativa. Chegou-se, portanto, a um método específico para dosear o metronidazol, uma vez que o pico observado não foi afetado pelos outros excipientes.

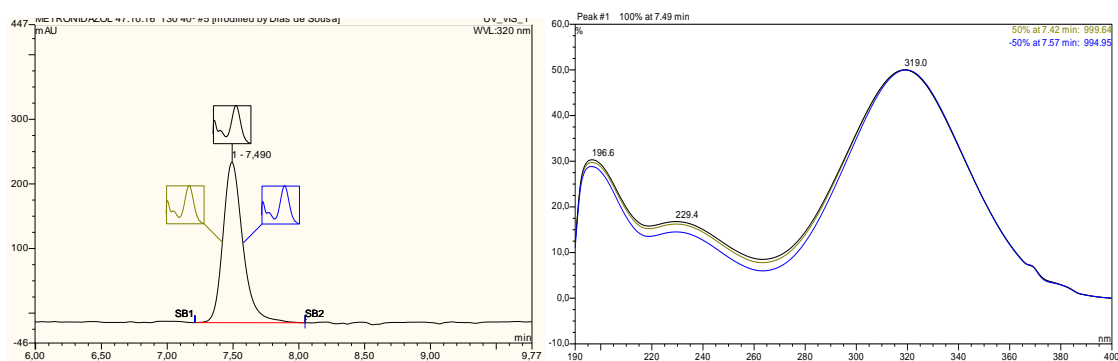


Figura 36 - Cromatograma do metronidazol à esquerda. À direita espectro da parte ascendente, do máximo e da parte descendente do pico do metronidazol.

Foi traçada uma curva de calibração com os 5 padrões de metronidazol. A equação da reta obtida foi do tipo $y = mx + b$, com $m = 1,2557$ e $b = 0,6303$. O valor de R foi 0,993, o que indica que as duas variáveis apresentam correlação entre si (Figura 37 - A). De referir que se considerou a concentração de 80% = 0,016 mg/mL, 90% = 0,018 mg/mL, 100% = 0,020 mg/mL, 110% = 0,022 mg/mL e 120% = 0,024 mg/mL.

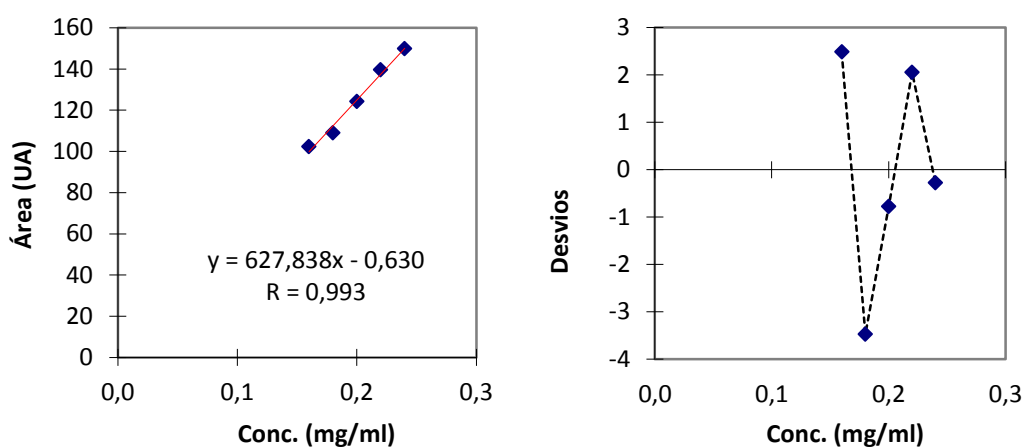


Figura 37 – A - Curva de calibração do metronidazol. B - Gráfico dos desvios.

Com base nesta curva, calcularam-se os valores dos desvios de cada ponto experimental em relação ao ponto teórico da reta ajustada e verificou-se uma distribuição aleatória dos mesmos (Figura 37 - B) o que, aliado ao facto dos seus valores em módulo serem baixos, confirma que o presente método mostra ter linearidade.

A amplitude deste procedimento analítico vai de 0,016 mg/mL a 0,024 mg/mL. Este valor corresponde à diluição de 10000 vezes da suspensão final que está doseada a 200 mg/mL em metronidazol. Chegou-se a esta dosagem, porque é a que permite administrar 5 mL de suspensão 2 vezes ao dia a um cão de peso médio (20 Kg), visto a dose média indicada habitualmente ser de 1g/dia BID.

Os resultados da repetibilidade podem ser vistos na Tabela 14. Tendo em vista que os resultados do coeficiente de variação são ligeiramente elevados, o método não apresenta uma boa precisão, o que pode estar relacionado com problemas no aparelho de HPLC ou na coluna utilizada.

Tabela 14 – Médias das áreas, desvios padrão e coeficientes de variação da curva de calibração do metronidazol (n=15).

Concentração (%)	Área UA)	Desvio padrão	Coeficiente de variação
Metronidazol 80%	102,304	1,581	1,5%
Metronidazol 90%	108,908	6,825	6,3%
Metronidazol 100%	124,158	4,041	3,3%
Metronidazol 110%	139,547	4,764	3,4%
Metronidazol 120%	149,769	7,658	5,1%

Através da análise dos cromatogramas obtidos a partir das soluções padrão, (Figura 36) é possível determinar vários parâmetros, que permitem caracterizar o método utilizado para o doseamento da s.a.. Um destes parâmetros é o fator K' (fator de capacidade). O valor médio obtido para os padrões testados foi 0,98 (coeficiente de variação 1,0 %, n=15). Embora a *Guidance* sugira um valor superior a 2 (63), no presente trabalho não havia nada que interferisse com o pico do metronidazol e como tal considerou-se o valor de K' aceitável para não tornar a corrida muito longa.

A média do número de pratos teóricos (NPT) obtido da injeção dos 5 padrões foi NPT = 13071 (coeficiente de variação 3,5%, n=15) o que está de acordo com a *Guidance* (63), uma vez que a recomendação é que este valor seja superior a 2000.

Quanto à assimetria dos picos obtidos, o valor médio de A obtido foi 1,22 (coeficiente de variação 2,4%, n=15), sendo que o ideal é que seja de 1. De facto, com o decorrer das semanas e do uso da coluna, foi aumentando o *tailing*, tal como se pode verificar no cromatograma da Figura 36. Uma das possíveis justificações para a ocorrência deste fenómeno é o envelhecimento da coluna, na qual vão ficando retidas diversas substâncias ao longo do tempo, diminuindo a sua capacidade de separação.

Tabela 15 – Resultados do doseamento do metronidazol na suspensão final durante os ensaios de estabilidade.

	25°					40°				
	Média (áreas)	dp (áreas)	cv (áreas)	[conc.] mg/mL	[conc.] %	Média (áreas)	dp (áreas)	cv (áreas)	[conc.] mg/mL	[conc.] %
t0	213,4	2,5	1,2%	341,05	170,5	128,9	5,1	4,0%	206,39	103,2
t1	83,3	1,2	1,5%	133,70	66,8	95,7	11,1	11,6%	153,48	76,7
t4						73,4	3,0	4,1%	118,04	59,0
t7	64,2	2,7	4,3%	103,31	51,7	72,7	5,0	6,9%	116,81	58,4
t8						77,1	1,4	1,9%	123,91	62,0
t12	102,4	5,8	5,7%	164,13	82,1					
t14	104,0	6,6	6,4%	166,68	83,3	101,6	5,6	5,5%	162,86	81,4
t30	56,3	14,5	25,8%	90,75	45,4	59,9	18,9	31,6%	96,46	48,2

Analisando os resultados do doseamento do metronidazol ao longo dos 30 dias em que decorreram os ensaios de estabilidade não podemos tirar nenhuma conclusão concreta (Tabela 15). As percentagens de s.a., face ao 100 % (200 mg/mL), não apresentam uma variação tendencial linear, diminuindo do t0 até ao t7 e depois aumentando ao dia 14, para diminuir novamente 30 dias após a preparação.

Tudo isto pode dever-se a um problema na amostragem. Sendo as suspensões sistemas heterogéneos, com componentes líquidos e componentes sólidos, pode

haver heterogeneidade na distribuição dos mesmos pela suspensão e, ao ser recolhida a amostra (para diluir e, posteriormente, injetar no HPLC), obtém-se mais fase líquida do que fase sólida (metronidazol, por exemplo). A colheita das amostras foi feita diretamente dos frascos onde estas se encontravam armazenadas nas respetivas câmaras climáticas. A suspensão era agitada antes da recolha da amostra e a recolha foi feita por micropipeta. Assim, pode ter havido aspiração de maior quantidade de líquido do que de pó, até porque os líquidos oferecem menor resistência à pipetagem, sendo esta proporção errática e dando origem aos resultados que foram obtidos.

O processo de recolha de amostra da suspensão de metronidazol deverá ser melhorado, no futuro, podendo ser efetuado por pesagem em vez de amostragem por volume. No período durante o qual decorreu esta tese não houve oportunidade para se proceder a esta alteração de método.

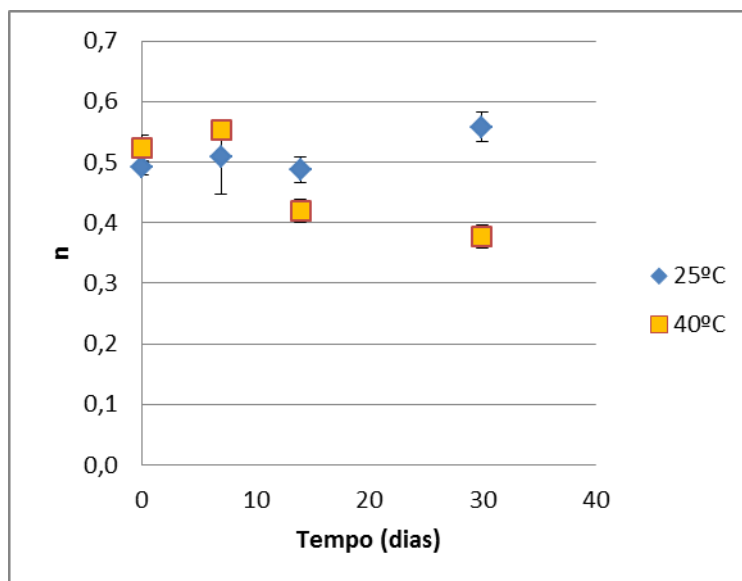
4.4.3 Determinação da viscosidade

Apresenta-se de seguida os resultados da determinação da viscosidade das suspensões finais. Tanto para a suspensão armazenada a 25°C como para a armazenada a 40°C as determinações foram efetuadas no dia da sua preparação, após 7, após 14 e após 30 dias. A viscosidade foi medida a uma baixa velocidade de corte ($12,64 \text{ s}^{-1}$) - $\eta \dot{\gamma}_{12,64}$ - e a uma alta velocidade de corte ($162,3 \text{ s}^{-1}$) - $\eta \dot{\gamma}_{162,3}$. Foram avaliadas sempre 3 amostras de cada suspensão a cada dia, de forma que os valores $\dot{\gamma}$ apresentados na Tabela 16 são valores médios.

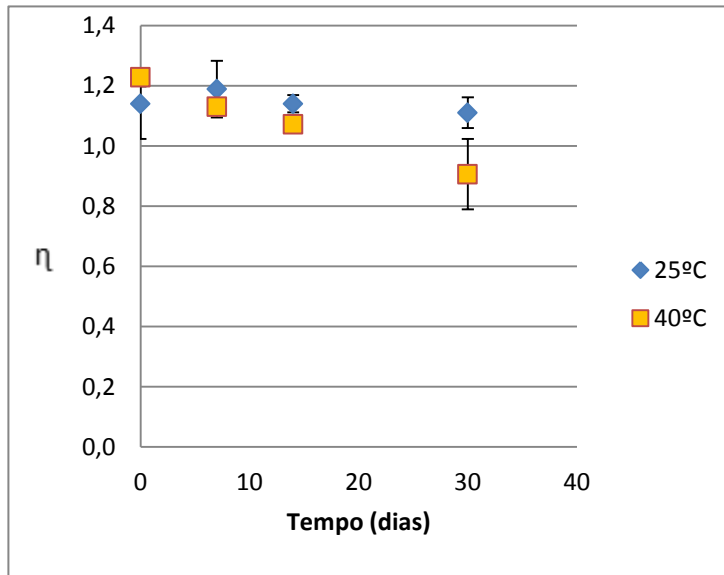
Tabela 16 – Resultado da avaliação reológica das suspensões finais aplicando o modelo de Herschel-Bulkley.

Temperatura	25°C				40°C			
Tempo (dias)	0	7	14	30	0	7	14	30
K	1,4370	1,4202	1,5635	0,9889	1,3524	1,0826	2,1791	2,5428
dp K	0,1517	0,0938	0,1217	0,0193	0,0376	0,3891	0,3179	0,5627
n	0,4908	0,5081	0,4875	0,5582	0,5225	0,5524	0,4194	0,3777
dp n	0,0229	0,0090	0,0193	0,0193	0,0118	0,0618	0,0217	0,0250
τ_0	8,4734	8,9832	8,3255	9,3988	9,5749	9,9776	7,0804	4,4883
R^2	0,9948	0,9909	0,9943	0,9956	0,9950	0,9738	0,9880	0,9955
$\eta \dot{\gamma}_{12,64}$	1,1400	1,1883	1,1400	1,1103	1,2273	1,1303	1,0713	0,9060
dp	0,1170	0,0942	0,0290	0,0508	0,0295	0,0167	0,0167	0,1170
$\eta \dot{\gamma}_{162,3}$	0,1547	0,1600	0,1553	0,1517	0,1690	0,1590	0,1520	0,1360
dp	0,0103	0,0137	0,0058	0,0055	0,0036	0,0082	0,0052	0,0087

dp – desvio padrão.

Figura 38 – Variação de n com o tempo.

O valor de n (índice de escoamento) para ambos os lotes é sempre inferior a 1, logo, a presente suspensão apresenta um comportamento reofluidificante (Figura 38). Ou seja, à medida que se aumenta a tensão de corte sobre a preparação, esta vai ficando mais fluida.

Figura 39 – Variação da viscosidade (Pa.s) a baixa tensão de corte ($12,64 \text{ s}^{-1}$) com o tempo.

A baixa tensão de corte, não há grande variação da viscosidade ao longo dos 30 dias de ensaios de estabilidade (Figura 39). As suspensões armazenadas a 40°C perdem um pouco mais de viscosidade com o decorrer do tempo do que as suspensões armazenadas à temperatura ambiente.

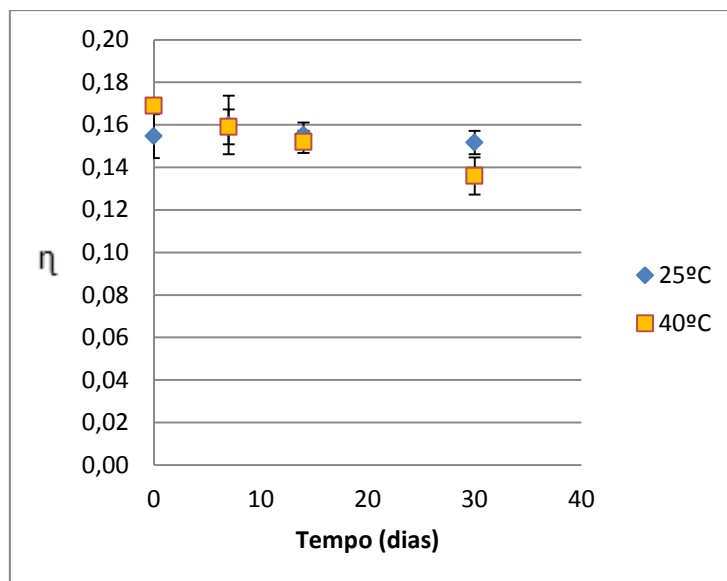


Figura 40 - Variação da viscosidade (Pa.s) a elevada tensão de corte ($162,3 \text{ s}^{-1}$) com o tempo.

A elevada tensão de corte, nota-se ainda menos a diferença entre os dois lotes de suspensão final, não havendo praticamente alteração da viscosidade ao longo dos 30 dias (Figura 40).

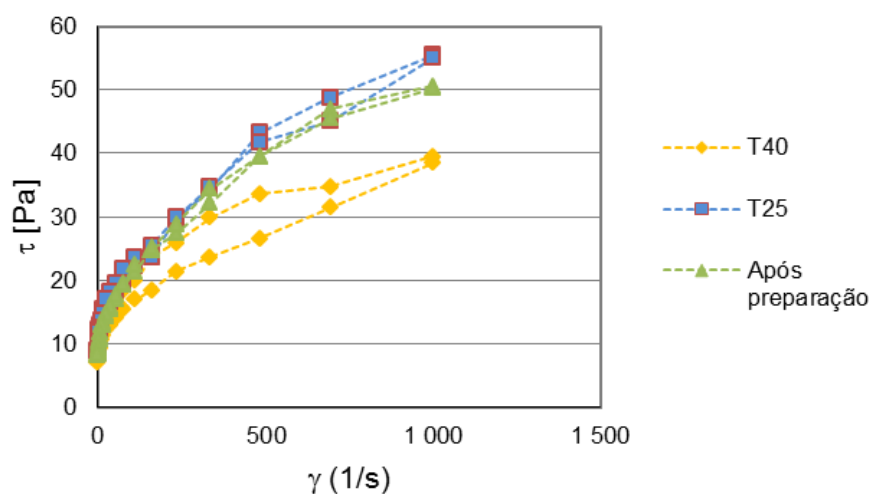


Figura 41 – Comportamento reológico das suspensões após preparação e após 30 dias armazenadas a 25 e 40°C.

A análise das curvas de escoamento indica que a suspensão final apresenta um comportamento reofluidificante, e que, no período de 30 dias, a suspensão armazenada a 40°C tem uma variação mais relevante das suas características reológicas, apresentando-se mais fluida (Figura 41). Já os 3 lotes armazenados a

25°C mantiveram-se muito próximos dos resultados da viscosidade obtidos logo após a preparação.

A formulação armazenada a 40°C, a amarelo na figura, tem um comportamento tixotrópico aparente, uma vez que exhibe uma área de histerese (espaço entre as curvas ascendente e descendente). Esta formulação, apesar de ter tido maior variação na sua viscosidade após 30 dias, não apresenta, do ponto de vista macroscópico, grandes diferenças que a distingam da formulação armazenada a 25°C.

4.4.4 Avaliação das características organoléticas

A suspensão ao fim de 7, 14 e 30 dias mantém o mesmo aspeto, cor, sabor e o mesmo odor do dia em que foi preparada (Figura 42).



Figura 42 - Aspeto da suspensão final 30 dias após preparação.

A possível instabilidade destas formulações (de formas farmacêuticas líquidas) deve-se principalmente devido às interações entre a s.a. e os excipientes, ao invés de degradação da s.a. pelas vias habituais como oxidação, hidrólise, fotólise ou termólise. Pode concluir-se que, ao considerar a segurança e a eficácia das formas farmacêuticas líquidas preparadas extemporaneamente, é importante considerar não só a estabilidade do fármaco, mas a formulação inteira (70).

4.5 Fórmula final

Na sequência do desenvolvimento farmacêutico levado a cabo durante esta tese, a fórmula que se apresenta na Tabela 17 foi a que reuniu as melhores características perante os objetivos iniciais, que eram criar um veículo geral, fácil de preparar em ambiente de farmácia comunitária e ao qual possam ser adicionadas várias s.a. diferentes. Foi esta fórmula a escolhida para realizar os ensaios de estabilidade.

Uma vez que não foi possível obviar o problema do mau paladar do metronidazol nem testar outras s.a., seriam necessários mais estudos para melhorar a fórmula do presente veículo.

Tabela 17 – Fórmula final com metronidazol doseado para cães de peso médio.

Matérias-primas	Quantidade
Metilparabeno sódico	0,015% (m/v)
Propilparabeno sódico	0,01% (m/v)
Avicel® RC-591	2% (m/v)
GX	0,4% (m/v)
Tween® 80	0,005% (m/v)
Frutose	11% (m/v)
Corante Ponceau 4R	0,0023% (m/v)
Metronidazol	200 mg/mL
Aroma carne	1% (m/v)
Água purificada	q.b.p. 100 mL

A associação de agentes suspensores presentes no veículo – constituída por celulose microcristalina e carboximetilcelulose sódica (89:11), correspondente ao produto comercializado com a designação **Avicel® RC-591**, e por **Goma Xantana** – proporciona uma viscosidade adequada ao produto acabado, permitindo que escoe com facilidade do recipiente e contribuindo para manter a suspensão homogênea, após agitação, sem aglomerados de partículas, durante um intervalo de tempo apropriado à sua administração. Este aspeto assume uma importância muito especial já que permite uma maior uniformidade das doses administradas e rigor posológico (60).

A goma xantana atua como coloide protetor da celulose microcristalina e, simultaneamente, auxilia a dispersão desta última na água. Entre as vantagens deste agente suspensor, destaca-se a sua rápida dispersão em água, não necessitando de uma hidratação progressiva, e a capacidade de reduzir o sabor amargo conferido por muitos fármacos. A goma xantana, aqui também usada como agente floculante, integra, igualmente, a composição de diversos veículos incluídos no formulário oficial dos EUA e de outros veículos preparados industrialmente (60).

Por sua vez, os agentes conservantes presentes no veículo – metilparabeno e propilparabeno sódicos – interagem com poucas s.a. e promovem a estabilidade microbiológica da preparação. Contrariamente a outros agentes conservantes, os parabenos são eficazes numa gama alargada de valores de pH, apresentando atividade antimicrobiana máxima quando o pH do meio está compreendido entre 4 e 8 (tal como é o caso da fórmula apresentada na Tabela 17). Este aspeto constitui uma vantagem extremamente significativa já que, em muitos casos, se torna necessário ajustar o pH das suspensões obtidas de modo a garantir a estabilidade das s.a. incorporadas (60).

Uma vez que o veículo se destina à preparação de suspensões para administração oral para uso veterinário, foi atribuída uma atenção especial à sua otimização no que se refere ao paladar, de modo a contribuir para a adesão dos animais à terapêutica. Assim, o veículo encontra-se ainda devidamente edulcorado com frutose na concentração de 11% (m/v) e aromatizado com aroma de carne na concentração de 1% (m/v), o que contribui, decisivamente, para promover a adesão dos animais à terapêutica. Tanto a presença de edulcorante como de aroma podem sofrer alterações na fórmula final. Os aromas são selecionados consoante as preferências do animal ao qual se destina o medicamento e o edulcorante pode ou não ser adicionado à fórmula, consoante o tipo de aroma. Para animais diabéticos e/ou em situações em que a terapêutica é prolongada, pode retirar-se por completo a frutose.

Este veículo está particularmente adaptado para incorporar s.a. que formam ângulos de contacto elevados com a água e cuja dispersão no líquido se encontra dificultada, já que as partículas tendem a flutuar. Esta capacidade especial do veículo resulta da presença de polissorbato 80 na concentração de 0,005% (m/v) que, atuando como agente molhante, promove a dispersão das s.a. e evita a flutuação das respetivas partículas, não originando formação de espuma, nem conferindo mau sabor ou odor às suspensões, nem provocando a formação de sedimentos irredispersíveis (60).

O corante utilizado (Ponceau 4R) não reage com qualquer matéria-prima da fórmula, tem qualidade alimentar e um elevado grau de segurança, mesmo sendo utilizado em percentagem muito pequena. Serve o propósito de embelezar a preparação final, do ponto de vista estético, mais do que contribuir para a funcionalidade da mesma. No caso particular de MUV, os corantes destinam-se mais a agradar aos donos do que propriamente aos animais que, julga-se, não terem a mesma percepção do espectro cromático que os seres humanos.

Este veículo destinado à preparação de suspensões orais para uso veterinário destina-se a poder ser adicionado de variadas s.a. (das quais o metronidazol constituiu um exemplo), que possam ser utilizadas para tratamento de animais de companhia. Assim, o veículo pode ser preparado antecipadamente, proporcionando uma obtenção simples e rápida dos produtos acabados por simples dispersão das s.a..

5. Conclusões

Este estudo permitiu, antes de mais, compreender as perspetivas do médico veterinário e do farmacêutico quanto à dificuldade que existe na prescrição de medicamentos a animais de companhia.

Após análise das respostas ao inquérito realizado aos médicos veterinários, verificámos que 63 clínicos de animais de companhia foram capazes de referenciar 110 fármacos difíceis de administrar, sendo apontado como mais problemático o metronidazol, por ser amargo e difícil de ajustar os comprimidos existentes ao peso dos diferentes animais.

Foi então criada uma suspensão, tendo sido determinada a concentração considerada ideal de ARC (2%), goma xantana (0,4%), polissorbato 80 (0,005%) e conservantes (metilparabeno sódico a 0,015% e propilparabeno sódico a 0,01%). Tendo-se obtido uma suspensão estável, com boas características reológicas, foram adicionados aromatizantes de acordo com a espécie. Para os cães foram adicionados à suspensão base os aromas a carne (1%), fígado (1,5%) e frutos vermelhos (1%, com 11% de frutose). Para os gatos foram adicionados os aromas a pescado (2%), fígado (1,5%) e banana (1,5%, com 11% de frutose).

A estes constituintes foi no final adicionada a s.a. que mais problemas apresentava à prescrição médico-veterinária, o metronidazol (200 mg/mL) e um corante vermelho (Corante Ponceau 4R). Contudo, e apesar do esforço para mascarar o sabor característico do metronidazol com outros aromas para além dos anteriormente referidos, tal não foi possível. Os testes de preferência realizados a 30 cães e 33 gatos, com as suspensões base e aromas (sem fármaco nem corante), demonstraram que a população canina em estudo preferia os sabores a carne e a fígado, enquanto a felina preferia os sabores a pescado e fígado, tendo estas duas espécies manifestado um maior desagrado pelos sabores frutados.

Tendo sido obtida a fórmula final da suspensão, foi finalmente avaliada a sua estabilidade no momento em que foi preparada e 7, 14 e 30 dias após a sua preparação.

Em relação ao pH, viscosidade e características organoléticas, a suspensão manteve-se estável durante, pelo menos, 30 dias após a sua preparação, pressupondo boas condições de armazenagem. Os resultados em relação ao doseamento do metronidazol não foram conclusivos, pelo que não se pode inferir sobre a estabilidade geral desta fórmula e assim assegurar a sua eficácia pós-produção, devendo o método de amostragem ser aperfeiçoado no futuro. Seria ainda

importante testar a compatibilidade da suspensão criada com outros fármacos, para averiguar se este veículo que desenvolvemos pode ser universal e uma mais-valia para a preparação de manipulados para animais de companhia nas farmácias.

6. Referências bibliográficas

1. Perez J. The Veterinarian.
2. Dos crimes contra animais de companhia, Lei n.º 69/2014 (2014).
3. Costa AR. 20% dos medicamentos vendidos em farmácias são do segmento de saúde animal 2016 [Available from: <http://www.veterinaria-atual.pt/20-dos-medicamentos-vendidos-em-farmacias-sao-do-segmento-de-saude-animal/>].
4. Mundo dos Animais. Animais de Estimação 2016 [Available from: <https://www.mundodosanimais.pt/animais-estimacao/>].
5. Pinto C. Estudo GfKTrack2Pets - Portugal tem 6,7 milhões de animais de estimação. Veterinária Atual. 2015 Outubro de 2015.
6. Soares PL. Principais Patologias que afetam cães e gatos e situações mais frequentes de urgência e/ou de internamento [Relatório do Estágio Curricular]: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro; 2007-2008.
7. Bishop Y. The Veterinary Formulary. Sixth edition ed: Pharmaceutical Press in association with the British Veterinary Association; 2005.
8. In: Swarbrick J, editor. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Third ed: Informa Healthcare USA, Inc.; 2007.
9. Clavijo MJ, Comes VB. La Formulación Magistral En Veterinaria: Distribuciones El Cid, Valencia; 2010.
10. Infarmed, Saúde Md. Vademecum: Infarmed; 2005.
11. Hardee GE, Baggot JD. Development and Formulation of Veterinary Dosage Forms 1998.
12. Regula a prescrição e a preparação de medicamentos manipulados Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de Abril (2004).
13. Decreto-Lei nº 314/2009 de 28 de Outubro (2009).
14. Ordem dos Farmacêuticos. Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos [Available from: http://www.ceic.pt/portal/page/portal/CEIC/UTILIDADES_INFORMACAO/NORMATIVO/NACIONAL/CodigoDeontologico_OF.pdf].
15. Quarta alteração ao Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos, Lei n.º 131/2015 (2015).
16. Best in Show. Health for Animals [Available from: <http://www.bestinshow.pt/>].
17. Fagron. SyrSpend® SF Concept Superior Suspending Technology.
18. Ofner CM, Schnaare RI. Suspensions: FMC Corporation; 2000.
19. Viladonet. www.viladonet.com 2014. [acedido em 30/04/2016]. Available from: <https://viladonet.wordpress.com/2014/04/30/como-dar-remedio-liquido-para-o-seu-cao/>.
20. Glass BD, Haywood A. Stability considerations in liquid dosage forms extemporaneously prepared from commercially available products. Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences. 2006;9(3):398-426.
21. Turner PV, Brabb T, Pekow C, Vasbinder MA. Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science. 2011;50:600-13.
22. Decreto-Lei n.º 128/2013, de 5 de setembro (2013).
23. Infarmed MdSe. Medicamentos Manipulados 2005.
24. Cook WG, Fenton ME, Rowe RC, Sheskey PJ. Handbook of Pharmaceutical Excipients sixth edition ed 2012 2012-01-01.
25. MSD Animal Health L, inventor Resumo das Características do Medicamento, Panacur PetPasta 187,5 mg/g de pasta oral para cães e gatos. Portugal 2005.
26. Diazepam Labesfal, solução injetável, Resumo Das Características do Medicamento. Portugal 2005 01-02-2005
27. Royal Canin. A Alimentação 2014 [Available from: <http://www.royalcanin.pt/o-seu-gato/o-gatinho/a-alimentacao/a-alimentacao-caseira-ou-industrial>].
28. Christopher MM, Perman V, Eaton JW. Contribution of propylene glycol-induced Heinz body formation to anemia in cats. Journal of the American Veterinary Medical Association. 1989;104:5-56.
29. Bauer MC, Weiss DJ, Perman V. Hematologic alterations in adult cats fed 6 or 12% propylene glycol. American Journal of Veterinary Research. 1992;69-72.
30. Claus MA, Jandrey KE, Poppenga RH. Propylene glycol intoxication in a dog. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care. 2011;679-83.

31. Christopher MM, Eckfeldt JH, Eaton JW. Propylene glycol ingestion causes D-lactic acidosis. *Laboratory Investigation*. 1990;114-8.
32. Prista LN, Alves AC, Morgado R, Lobo JS. *Tecnologia Farmacêutica*. 7ª Edição ed. Gulbenkian FC, editor 2011.
33. FMC Corporation. Health and Nutrition. In: Corporation F, editor. *Products* 2015.
34. Pharma J. Adjustment of Rheological Properties for Veterinary Suspensions. In: Pharma J, editor. *Brochures*.
35. Infarmed MdSe. *Monografias*. FARMACOPEIA PORTUGUESA 9ª ed 2009.
36. Ferrell F. Preference for Sugars and Nonnutritive Sweeteners in Young Beagles *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 1984;8:199-203.
37. Acofarma. *Fichas de Informação Técnica*, Nipagin y Nipasol. Acofarma.
38. Associação Nacional das Farmácias. Concentrado de Parabenos. *Formulário Galénico Português* 2001. p. FGP B.8.
39. Allen Jr. LV. *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*. Second ed. Washington, D.C.: APHA (American Pharmaceutical Association); 2002.
40. FLAVORx. *FLAVORx Product Catalog*. 2015.
41. Paoletti JE. Veterinary Flavor Suggestions. *International Journal of Pharmaceutical Compounding*. 1999;3:186,7.
42. Guideline on excipients in the dossier for application for marketing authorisation of a medicinal product, EMEA/CHMP/QWP/396951/2006 (2006).
43. Amchovaa P, Kotolovac H, Ruda-Kucerovaa J. Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* [Internet]. 2015 acedido em 30/11/2015; volume 73:[914–22 pp.]. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273230015300751>.
44. Abbey J, Fields B, O'Mullane M, Tomaska LD. Food Additives, Colorants. In: Yasmine Motarjemi, Gerald Moy, Todd E, editors. *Encyclopedia of Food Safety*. First Edition ed: Elsevier, Inc.; 2014. p. 460-1.
45. Ramsey I. *Small Animal Formulary*. 7th edition ed: British Small Animal Veterinary Association (BSAVA); 2011.
46. Plumb DC. *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. Eighth Edition ed: Pharma Vet Inc.; 2015.
47. Le Vet Beheer B.V., inventor *Resumo das Características do Medicamento - Metrobactin*. 2015.
48. Aldrich GC, Koppel K. Pet Food Palatability Evaluation: A Review of Standard Assay Techniques and Interpretation of Results with a Primary Focus on Limitations. *Animals*. 2015(Pet Food Palatability):43-55.
49. AFB International. *Principles of Pet Food Palatability* 2016 [Available from: <http://afbinternational.com/pt/downloads/principles-of-pet-food-palatability>].
50. Welankiwar A, Saudagar S, kumar J, barabde A. Photostability Testing of Pharmaceutical Products. *International Research Journal of Pharmacy*. 2013:11-5.
51. USP 29 The United States Pharmacopeia
NF 24 The National Formulary: Board of Trustees; 2006.
52. Veiga F. Estabilidade de Medicamentos INFARMED [Available from: https://www.infarmed.pt/pt/noticias_eventos/eventos/2005/impacto_qualidade/ESTABILIDADEI/NFARMED.pdf].
53. Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A (R2), Q1A(R2) (2003).
54. Carvalho FG, Moreno SA. Estudos de Estabilidade e Prazos de validade de Produtos Farmacêuticos In: (CIM) CdIdM, editor.: LEF- Infosaúde; 2012.
55. Acofarma. *Ficha de Datos de Seguridad*, Nipasol sódico Ph.Eur 2010 [updated 28/12/2010. Available from: <http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/1874-1969666b2f9ba89dede6f6be6175444caaf0a5838/main/files/Nipasol%20sodico.pdf>].
56. Proquimac. Ponceau 4R Conacert - *Ficha Técnica*. In: Proquimac FP, editor. rev: 04 ed 2009. p. 1.
57. Ferreira AO. *Guia Prático da Farmácia Magistral*. 3ª Edição ed 2008.
58. George HF, Qureshi F. Newton's Law of Viscosity, Newtonian and Non-Newtonian Fluids. In: Wang QJ, Chung Y-W, editors. *Encyclopedia of Tribology*. Boston, MA: Springer US; 2013. p. 2416-20.
59. Herschel WH, Bulkley R. Konsistenzmessungen von Gummi-Benzollösungen. *Kolloid-Zeitschrift*. 1926;39(4):291-300.
60. CETMED. *Formulário Galénico Português* 2005.

61. Pinto SA. Desenvolvimento Galénico de um Veículo para a Preparação de Suspensões de Benzoato de Metronidazol: Universidade do Porto; 2006.
62. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. 4 version ed2005.
63. Center for Drug Evaluation and Research (CDER) - FDA. Reviewer Guidance - Validation of Chromatographic Methods 1994.
64. Dolan JW. Column Dead Time as a Diagnostic Tool. *Lc Gc Eur.* 2014;27(1):28-+.
65. Bradshaw JW. The evolutionary basis for the feeding behavior of domestic dogs (*Canis familiaris*) and cats (*Felis catus*). *The Journal of Nutrition.* 2006;7 Suppl:1927S-31S.
66. Clinic M. Metronidazole (Oral Route) - Precautions Mayo Clinic2016 [updated 01/01/2016. Available from: <http://www.mayoclinic.org/drugs-supplements/metronidazole-oral-route/precautions/drg-20064745>.
67. Merck Sharp & Dohme Research Laboratories. The Merck Index. Windholz M, editor: Merck & Co., Inc.; 1983.
68. Prista LN, Alves C, Morgado R, Lobo JS. *Tecnologia Farmacêutica*. 6ª ed: Fundação Calouste Gulbenkian; 2002.
69. Subcommittee on Dog and Cat Nutrition CoAN, Board on Agriculture and Natural Resources, Division on Earth and Life Studies, National Research Council. *Nutrient Requirements of Dogs and Cats*, Animal nutrition series - Nutrient Requirements of Domestic Animals2006. 424 p.
70. Haywood BDGaA. Stability considerations in liquid dosage forms extemporaneously prepared from commercially available products. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences.* 2006:398-426.

Anexo

CONSENTIMENTO INFORMADO, LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM PROJETOS DE DOCÊNCIA E/OU INVESTIGAÇÃO

Por favor, leia com atenção a seguinte informação. Se achar que algo está incorreto ou que não está claro, não hesite em solicitar mais informações. Se concorda com a proposta que lhe foi feita, queira assinar este documento.

Título do estudo: Protocolo para Testes de Palatabilidade de Suspensões para Uso Veterinário.

Enquadramento: Trabalho executado no âmbito da Tese de Mestrado em Tecnologia Farmacêutica, pela Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

Explicação do estudo: Avaliação da preferência entre vários aromas destinados a Medicamentos de Uso Veterinário. Serão testadas as preferências de 2 grupos de animais: cães e gatos, em que estes decidirão entre 3 diferentes aromas que lhes serão apresentados.

O estudo decorrerá ao longo de vários dias, dependendo da disponibilidade dos proprietários dos animais. As condições do protocolo serão sempre as mesmas, para que a única variação seja a preferência do animal.

Condições e financiamento: o presente estudo mereceu parecer favorável do ORBEA do ICBAS-UP.

A participação do animal/proprietário tem carácter voluntário e não se preveem quaisquer prejuízos ou danos para ambos.

Confidencialidade e anonimato: os dados recolhidos para o presente estudo são de uso exclusivo para o fim apresentado, pelo que se garante total confidencialidade.

Agradecimentos e identificação do/a investigador/a e da pessoa que pede o consentimento, se for diferente: Bárbara Pereira, farmacêutica, mestranda em Tecnologia Farmacêutica, FFUP.

Assinatura(s): ...

~~~~~  
*Declaro ter lido e compreendido este documento, bem como as informações verbais que me foram fornecidas pela/s pessoas/s que acima assina/m e que considero suficientes. Foi-me garantida a possibilidade de, em qualquer altura, recusar participar neste estudo sem qualquer tipo de consequências. Desta forma, aceito participar neste estudo e permito a utilização dos dados que de forma voluntária forneço, confiando em que apenas serão utilizados para esta investigação e nas garantias de confidencialidade e anonimato que me são dadas pelo/a investigador/a.*

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura:

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**ESTE DOCUMENTO, COMPOSTO DE 1 PÁGINA, É FEITO EM DUPLICADO:  
UMA VIA PARA O/A INVESTIGADOR/A, OUTRA PARA A PESSOA QUE CONSENTE**



Rua Jorge Viterbo Ferreira Nº 228,  
4050-313 Porto, Portugal  
Telefone + 351 220 428 000  
www.icbas.up.pt

**Parecer do Organismo Responsável pelo Bem-Estar Animal (ORBEA) do ICBAS-UP**

**PROJETO Nº 155/2016**

**Título:** TESTES DE PALATABILIDADE DE SUSPENSÕES PARA USO VETERINÁRIO

**Investigador responsável:** Bárbara Sofia Pinto Miranda Pereira

**Outros Investigadores:** Margarida Duarte Araújo e Ana Patrícia Sousa

**Duração do Projeto:** até 30 de setembro de 2016

O Organismo Responsável pelo Bem-Estar Animal (ORBEA) do ICBAS-UP, cuja constituição e regulamento foi aprovado em Conselho Executivo de 22 de abril de 2015, considerando o disposto no D-L nº 113/2013 de 7 de agosto e no Despacho n.º 2880/2015, decidiu emitir parecer favorável à realização do projeto supracitado, por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

Pelo ORBEA do ICBAS-UP,

Prof. Doutora Cláudia Sofia Baptista

---

*The above project is in accordance with the Portuguese law and the ICBAS-UP Animal Welfare Body criteria.*

---

## Protocolo para Testes de Palatabilidade de Suspensões para Uso Veterinário

Executar **teste de preferência** entre **3** diferentes **aromas** de cada vez.

Usam-se suspensões com a fórmula final, com o respetivo aroma, sem corante. Todas as **suspensões serão iguais entre si, apenas diferem no aroma.**

A **mesma quantidade** de suspensão inicial é colocada em cada taça e variará consoante o peso e a espécie animal:

- Gato e cão < 5 Kg – 5 mL
- Cão 5-25 Kg – 10 mL
- Cão >25 Kg – 15 mL

As taças (ou prato descartável branco) serão sempre iguais e o ensaio começará sempre com a taça limpa.

Verificar:

- A qual das taças o animal se aproxima 1º (**1ª aproximação**)
- De qual ele come 1º (**preferência**)
- Para cada aroma, quantas vezes a **suspensão foi ingerida na totalidade** (% de taças terminadas), **parcialmente** ou **recusada**.

Cada ensaio, com um animal de cada vez, deve demorar **5 minutos**. Os ensaios poderão ser filmados de forma a analisar melhor, posteriormente, o comportamento do animal.

De acordo com a literatura consultada pode usar-se qualquer raça de cão/gato, independentemente do tamanho ou idade.

Não será usada uma taça controlo (sem aroma).

Painel de cães: cães de companhia de conhecidos.

Painel de gatos: gatos de companhia de conhecidos.



*“O indivíduo, enquanto quiser saber, será sempre estudante.*

*E então, será sempre jovem.”*

Aureliano da Fonseca.